

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie  
Studijní obor: Ekologická a evoluční biologie



**Pavel Pešek**

Fylogeografie a genetická variabilita bentických koryšů v evropských  
vnitrozemských vodách  
Phylogeography and genetic variation of benthic crustaceans in European  
inland waters

Bakalářská práce

Školitel: doc. RNDr. Adam Petrusek Ph.D.

Praha, 2011

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 11.08.2011

.....

## Abstrakt

Tato bakalářská práce se zabývá shrnutím známých údajů o geografickém rozložení genealogických linií a genetické variability převážně na vnitrodruhové úrovni a jeho historických příčin u bentických korýšů evropských kontinentálních vod z podtřídy Eumalacostraca. V práci jsou zahrnuty ty druhy, ke kterým bylo publikováno dostatečné množství souvisejících prací. Detailněji je diskutována situace raků rodu *Austropotamobius*. Současné rozložení genealogických linií vyšších bentických korýšů bylo ovlivněno změnami v propojenosti a obyvatelnosti vodních habitatů. Linie druhové se často oddělily v důsledku geologických a klimatických procesů ve třetihorách, příkladem může být oddělení druhových komplexů račího rodu *Austropotamobius*, rozdělení druhových linií komplexu blešivce potočního *Gammarus fossarum* a berušky vodní *Asellus aquaticus*. Dnešní distribuce vnitrodruhových linií byla silně ovlivněna čtvrtohorními cykly zalednění, se kterými souvisí nejen zánik mnoha ekosystémů při postupu ledovců, ale i vznik nových kolonizačních cest. Takovými byla jezera při okraji tajících ledovců, která využil například blešivec jezerní *Gammarus lacustris*, nebo ústup moří, který umožnil rakovi bělonohému *Austropotamobius pallipes* kolonizovat Británii a krabovi říčnímu *Potamon fluviatile* kolonizovat Itálii a je možná příčinou kolonizace pevninských vod blešivcem *Gammarus duebeni*. Ve vrcholných zaledněních byla jižní Evropa výrazně sušší, což je možná důvodem rozpadu původního areálu raka bělonohého *Austropotamobius italicus*. Jedním z důsledků rychlého znovuosídlení zaledněných částí Evropy po konci posledního zalednění je snížená genetická variabilita na sever od Alp u původních račích druhů. S pleistocénními klimatickými oscilacemi souvisí i podobné rozložení genealogických linií. Populace raka bělonohého *A. pallipes* s. s. jsou rozděleny na atlantskou a středomořskou linii a podobné rozdělení linií má pstruh potoční *Salmo trutta* a velevrub malířský *Unio pictorum*. Rak kamenáč i rak říční kolonizovali střední Evropu z tradičního refugia na Balkáně povodím Dunaje a tomu odpovídá i jejich podobná fylogeografie. Výjimkou nesouhlasící s běžnými představami o evropské fylogeografii je beruška vodní, má primární centrum šíření v Panonské oblasti. Další netradiční refugia byla navržena například pro atlantskou linii raka bělonohého *A. pallipes* s. s., blešivce potočního a blešivce jezerního. V neposlední řadě bylo rozšíření bentických korýšů, a tím i jejich genetická diverzita a fylogeografie, silně ovlivněno člověkem. Raci byli přenášeni mezi povodími již od středověku, a člověkem zavlečený račí mor způsobil výrazný pokles jejich početnosti na většině území Evropy a fragmentaci jejich populací. Kanály propojující povodí umožnily šíření invazních druhů, např. přizpůsobivým pontokaspickým blešivcům rodu *Dikerogammarus*.

**Klíčová slova:** Fylogeografie, genetická variabilita, genealogické linie, refugium, propojenost povodí, raci, blešivci, berušky.

## Abstract

This thesis summarises published information about geographic distribution of genealogical lineages and genetic variability of benthic crustaceans of European continental waters, and evaluates the historical factors that affected their distribution. It is focused mainly on species for which multiple or in-depth studies have been published. A particular attention is given to crayfish of the genus *Austropotamobius*. Present distribution of genealogical lineages has been affected by changes in connectedness and availability of aquatic habitats. Species lineages often split in consequence to geological and climatic processes during the Tertiary, as exemplified on species complexes of *Austropotamobius* crayfish, species lineages of the amphipod *Gammarus fossarum* species complex, and the isopod *Asellus aquaticus*. The distribution of intraspecific lineages has been strongly affected by Quaternary cycles of glaciation, which not only destroyed many habitats by moving glaciers but also created new colonisation routes. Such routes were peri-glacial lakes, which had been used by *Gammarus lacustris*, or retreat of sea level, which enabled white-clawed crayfish to colonise England, and a freshwater crab to colonise Italy. Changes in sea levels are also the likely reasons for colonisation of continental waters by the amphipod *Gammarus duebeni*. Southern Europe was considerably dryer during Ice Ages, which may have caused disjunction of former continuous area of white-clawed crayfish in South Europe. One of the consequences of quick recolonization of deglaciated parts of Europe is a reduced genetic variation of indigenous crayfish species north of the Alps. Pleistocene climatic oscillations have also led to similar patterns in distributions of genealogical lineages in different aquatic species. Populations of the white-clawed crayfish *A. pallipes* s. s. in Western Europe are divided into Mediterranean and Atlantic lineages, and such pattern is similar to distribution of lineages of the bivalve *Unio pictorum* and the brown trout *Salmo trutta*. Stone crayfish and noble crayfish both colonised Central Europe from traditional southern refugia in the Balkans through the Danube drainage, and this is matched by their similar phylogeography. Exceptions from the common pattern of European freshwater phylogeography have been observed in the isopod *Asellus aquaticus*, which has a primary distribution center in the Pannonian region. Other “untraditional” refugia were proposed for example for the Atlantic lineage of the white-clawed crayfish of *A. pallipes* s. s., and two amphipod species. Last but not least of the factors that affected distribution of benthic crustaceans, and thus their genetic variability and phylogeography, are the human activities. Crayfish were transported by men between drainages since the Middle Ages, and human-introduced crayfish plague caused drastic decrease of crayfish abundance and fragmentations of their populations in majority of Europe. Canals connecting drainages enabled dispersion of invasive species, for example of highly adaptable Ponto-Caspian amphipods of the genus *Dikerogammarus*.

**Key words:** Phylogeography, genetic variability, genealogical lineages, refugia, drainage connectivity, crayfish, amphipods, isopods.

Děkuji svému školiteli Adamu Petruskovi za jeho zjevně nevyčerpatelnou trpělivost a ochotu, se kterou mi radil v průběhu psaní mé bakalářské práce.

# Obsah

1 Úvod.....	5
2 Čtvrtohorní klimatické oscilace a jejich vliv na evropskou fylogeografii.....	7
3 Rod <i>Austropotamobius</i> .....	8
3.1 Fylogeografie druhového komplexu raka bělonohého <i>A. pallipes</i> .....	9
3.1.1 Fylogeografie raka bělonohého <i>A. pallipes</i> sensu stricto.....	10
3.1.2 Fylogeografie raka bělonohého <i>A. italicus</i> .....	13
3.1.3 Shrnutí fylogeografie druhového komplexu <i>Austropotamobius pallipes</i> .....	18
3.2 Fylogeografie raka kamenáče <i>Austropotamobius torrentium</i> .....	19
4 Fylogeografie raka říčního <i>Astacus astacus</i> .....	21
4.1 Shrnutí fylogeografie raka říčního <i>Astacus astacus</i> .....	23
5 Různonožci rodu <i>Gammarus</i> .....	23
5.1 Fylogeografie blešivce jezerního <i>Gammarus lacustris</i> .....	23
5.2 Fylogeografie komplexu blešivce potočního <i>Gammarus fossarum</i> .....	24
5.3 Fylogeografie <i>Gammarus duebeni</i> .....	26
5.4 Shrnutí fylogeografie rodu <i>Gammarus</i> .....	26
6 Fylogeografie bentických korýšů Pontokaspické oblasti.....	27
7 Fylogeografie komplexu berušky vodní <i>Asellus aquaticus</i> .....	28
7.1 Shrnutí fylogeografie berušky vodní <i>Asellus aquaticus</i> .....	29
8 Genetická variabilita <i>Proasellus coxalis</i> .....	31
9 Genetická variabilita kraba říčního <i>Potamon fluviatile</i> .....	31
10 Závěr.....	32
11 Seznam citované literatury:.....	33
11.1 Převzaté citace:.....	38

## 1 Úvod

Cílem této práce je shrnout poznatky o geografickém rozložení genetické variability a genealogických linií v rámci druhů a druhových komplexů zástupců původních druhů bentických korýšů evropských kontinentálních vod z podtřídy Eumalacostraca. Práce by zároveň pro mě měla být seznámením s problematikou, která se dotýká mého diplomového projektu o genetice raka kamenáče. Proto se největší část práce věnuje rodu evropských sladkovodních raků *Austropotamobius*, do kterého patří druhové komplexy raka kamenáče *Austropotamobius torrentium* (Schrank, 1803) a raka bělonohého *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet, 1858). Dalšími druhy, kterým se věnuji jsou rak říční *Astacus astacus* (Linnaeus, 1758), několik druhů různonožců Amphipoda, dva druhy stejnonohých korýšů Isopoda a jeden druh sladkovodního kraba krab říční *Potamon fluviatile*. V jednotlivých kapitolách věnujících se postupně jednotlivým zástupcům korýšů, je ukázán přehled stávajícího rozsahu znalostí o fylogeografii a geografickém rozložení genetické variability na vnitrodruhové úrovni. U těch taxonů, kde to současná úroveň znalostí umožňuje, se přednostně věnuji jejich fylogeografii.

Fylogeografie je věda studující geografické rozložení genealogických linií obvykle na úrovni druhů a druhových komplexů (Avice 2000). Tímto termínem se ale obvykle označuje nejen věda, ale i zároveň i předmět jejího bádání. Fylogeografie evropských sladkovodních korýšů je stejně jako u jiných organismů předurčena zvětšováním a zmenšováním areálů a izolací určitých populací, ale na rozdíl od suchozemských druhů jsou zásadně ovlivněny tyto taxony tím, že vodní prostředí je přirozeně fragmentované a že existují přirozené bariéry mezi povodími a zároveň jasné koridory v rámci povodí. Je třeba dodat, že u všech korýšů, kterými se zabývám, je jakožto adaptace na život

v tocích redukované stadium volné planktonní larvy. Fylogeografie takových druhů by měla být vysvětlitelná historickými změnami v propojenosti povodí jako je tomu u některých sladkovodních ryb (Bernatchez a Wilson 1998). Distribuce genetické variability sladkovodních druhů neschopných běžně překonávat hranice povodí by měla odpovídat struktuře říčních sítí. Tak to bylo popsáno například u blešivce potočního (Siegismund a Muller a kol. 1991) a u raka bělonohého (Zaccara a kol. 2005).

Jednotlivé organismy se liší disperzními schopnostmi a ekologickými nároky, což ovlivňuje, jak snadno dojde ke vzniku izolovaných populací a jaké typy bariér jejich šíření zastaví nebo omezí genový tok mezi populacemi. Tyto procesy byly v Evropě na sever od Alp silně ovlivněny cykly ledových dob (Hewitt 1996), a to nejen samotným postupem a ústupem ledovců, ale i souvisejícími změnami, jako byl např. ústup moře, který zřejmě umožnil raku bělonohému kolonizovat Británii (Albrecht 1982 podle Grandjean a kol. 1997b), a vysychání Západní Evropy v průběhu glaciálů (Wu a kol. 2007), které mohlo způsobit přerušení spojitých jihoevropských areálů sladkovodních druhů (viz např. Pedraza-Lara a kol. 2010). Současné rozložení genealogických linií bylo také ovlivněno historickými změnami v propojenosti povodí (viz např. Fratini a kol. 2005). Opomenout při hledání příčin současného rozšíření genealogických linií nelze ani lidský faktor, hlavně u ekonomicky významných skupin. Už od středověku existují záznamy o přenášení sladkovodních raků i na velké vzdálenosti. Rozšíření sladkovodních korýšů také lidé ovlivnili výstavbou kanálů propojujících dříve oddělená povodí (Albrecht 1983 podle Holdich 2002). Lidmi vybudované kanály byly například využity jako koridory biologických invazí pontokaspických druhů na západ (Bii de Vaate a kol. 2002). Tyto antropogenní vlivy ztěžují pátrání po přirozených příčinách geografického rozložení genealogických linií. Zároveň ale také podněcují intenzivní výzkum geografického rozložení genetické variability z důvodu snah o ochranu ohroženého evolučního dědictví.

Studium fylogeografie a genetické variability je vhodné k vyhledávání biogeograficky a evolučně nezávislých oblastí na úrovni jednotlivých taxonů i uvnitř nich. Fylogeografické studie lze využít při plánování ochranných strategií (Bermingham a Moritz 1998), například při vymezení evolučně významných jednotek (ESU, Evolutionary Significant Unit). ESU jsou historicky izolované skupiny populací, které představují samostatnou část evolučního dědictví a při jejichž ochraně by měl být brán zřetel na jejich jedinečnost (Moritz 1994).

Doposud nejpoužívanější metodou studia rozložení genealogických linií korýšů bylo zhodnocení variability mitochondriální DNA mezi populacemi. Nejčastěji byl používán gen pro podjednotku I cytochrom c oxidázy (COI) (například Trontelj a kol. 2005 a Verovnik a kol. 2005) a gen pro ribozomální 16S rRNA (například Grandjean a kol. 2002 a Fratini a kol. 2005). Ve studiích, kde autory zajímala genetická variabilita i na vnitropopulační úrovni nebo u skupin populací, které v minulosti prošly výrazným zmenšením, jsou používány jaderné markery, např. metoda RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA) (například Gouin a kol. 2001) a alozymy (například Fevolden a kol. 1994). V novějších studiích se stále častěji používají jako jaderné markery mikrosatelity (například Baric a kol. 2006). Lepší představu o rozložení genealogických linií dávají studie, jejichž autoři zkoumali současně variabilitu více různě konzervativních genů (například Cataudella a kol. 2010).

## 2 Čtvrtohorní klimatické oscilace a jejich vliv na evropskou fylogeografii

Během posledních zhruba 700 tisíc let se v Evropě a Severní Americe zvýšila intenzita série zalednění, z nichž každé trvalo zhruba 100 tisíc let, a které byly rozděleny kratšími teplejšími obdobími interglaciálů. Poslední doba ledová skončila zhruba před 10 tisíci lety. Období zalednění byly spojeny s ústupem temperátních druhů do jižních evropských refugií a opětnou rychlou rekolonizací severních částí Evropy v teplejších obdobích. Důsledkem rychlé rekolonizace může být snížená genetická variabilita na sever od Alp (Hewitt 1996).

Ačkoli různé taxony evropské bioty odpovídaly na chladná čtvrtohorní období různě a nelze vytvořit jeden univerzálně platný fylogeografický scénář, existují určité podobnosti v rozložení genealogických linií. Ty jsou dány nejpravděpodobnější polohou hlavních glaciálních refugií na poloostrovech jižní Evropy a v přilehlých oblastech jihoevropských hor a možnými kolonizačními cestami, které z těchto refugií vedou (Taberlet a kol. 1998). Ve srovnávací fylogeografické studii bylo nalezeno několik hlavních kolonizačních cest sdílených různými taxony. Taberlet a kol. (1998) bohužel zahrnuli ve své studii jen jeden sladkovodní druh. Nejpravděpodobnější cesty postglaciální rekolonizace, jak je popisují Taberlet a kol. (1998), vedly z balkánského poloostrovního refugia na severozápad do střední Evropy a na severovýchod. Cestu povodím Dunaje zřejmě využil rak kamenáč (Trontelj a kol. 2005), beruška vodní (Verovnik a kol. 2005) a rak říční, u kterého se navíc předpokládá i kolonizační cesta na sever z černomořské oblasti (Schrimpf a kol. v tisku). Další obvyklá kolonizační cesta vedla z Iberského poloostrova na sever do západní a střední Evropy (ale zdá se, že tento směr rekolonizace není pro bentické korýše příliš charakteristický a nebyl dokladován u žádného z druhů korýšů, kterými se zabýváme). Další trasa vede z Itálie na severozápad Balkánu a nebo také naopak. V obou směrech mezi severozápadem Balkánu a Itálií se z různých refugií šířily linie raka bělonohého *A. italicus* (Faxon, 1914), což lze odvodit ze současného rozšíření jeho genealogických linií (Cataudella a kol. 2010). Skandinávie byla kolonizována dvěma cestami z Ruska a ze střední Evropy (Taberlet a kol. 1998). Tímto způsobem kolonizoval Skandinávii například blešivec jezerní (Vainio a Väinölä 2003).

Dalším rysem evropské fylogeografie je poloha čtyř hybridizačních zón (Taberlet a kol. 1998). Dvě z těchto zón jsou evropská pohoří Alpy a Pyreneje, která slouží jako migrační bariéry. Pyreneje pravděpodobně zabránily v postupu na sever španělským populacím raka bělonohého (Pedraza-Lara a kol. 2010) a v opačném směru zabránily berušce vodní kolonizovat iberský poloostrov (Verovnik a kol. 2005). Linie raka bělonohého z Apeninského poloostrova se nedokázaly přes pohoří Alp rozšířit na sever (Stefani a kol. 2011). Druhé dvě hybridizační zóny nejsou pro jednotlivé taxony vymezeny stejně, jelikož jsou to oblasti sekundárního kontaktu linií z různých refugií. Jedna z těchto linií prochází v severojižním směru střední Evropou. Příkladem může být linie sekundárního kontaktu západních a východních linií blešivce potočního (Müller 2000). Druhá linie sekundárního kontaktu rozděluje ve východozápadním směru Skandinávii. Z korýšů tuto linii potvrzuje rozšíření linií blešivce jezerního (Vainio a Väinölä 2003). Hlavní rozdělení evropských taxonů na druhové a někdy i poddruhové úrovni je v mnoha případech datováno do období před začátkem prvního zalednění poslední doby ledové (Taberlet a kol. 1998). Rozdělení druhových linií je datováno v období třetihor například u blešivce potočního (Müller 2000) a berušky vodní (Verovnik a kol. 2005).

V dalších studiích zabývajících se různými zvířecími i rostlinnými taxony se ukázalo nezbytným k vysvětlení fylogeografie předpokládat i jiná než tradiční jižní refugia (Provan a Bennett 2008). Netradiční glaciální refugia byla navržena i pro některé z koryšů, kterými se zabýváme. Tato refugia byla navržena na severozápadě Norska (Vainio a Väinölä 2003), v Belgických Ardenách a na západě Panonie (Verovnik a kol. 2005), v západní Francii (Gouin a kol. 2006). Za tradiční poloostrovní refugium nelze považovat ani poloostrov Istrie (který nebyl během poslední doby ledové poloostrovem) a přesto je zvažován jako jedno z refugií r. *Austropotamobius* (Trontelj a kol. 2005).

Odolnější sladkovodní organismy mohly při šíření v pleistocénu využít jezer vznikajících na okraji ledovců k překonání hranic povodí, což je považováno za jeden ze společných rysů fylogeografie severnějších palearktických druhů ryb (Bernatchez a Wilson 1998). U evropských koryšů byl vliv ledovcových jezer na šíření popsán například u blešivce jezerního (Meyran a Taberlet 1998).

### 3 Rod *Austropotamobius*

Rod *Austropotamobius* je rodem evropských sladkovodních raků s širokým rozšířením v Evropě. Jeho areál sahá od Iberského poloostrova na západě, k Balkánskému poloostrovu na východě a na sever do Británie. Raci rodu *Austropotamobius* vykazují velkou morfologickou a genetickou variabilitu, což je činí vhodným subjektem pro studium vlivu pleistocénních klimatických změn (Santucci a kol. 1997). Recentní fragmentace areálu a zmenšování populací vede ke ztížení studia fylogeografie tohoto rodu, ale zároveň je další motivací pro jeho studium.

A právě recentní fragmentace areálu raků rodu *Austropotamobius* pozorovaná ve více evropských zemích (Bramard a kol. 2006, Hefti a Stucki 2006, Diéguez-Urbeondo a kol. 2008) je důvodem pro intenzivní studium fylogeografie a genetické variability rodu *Austropotamobius* pro ochranné účely. V mnoha povodích jsou populace omezené jen na horní toky. Horní toky jsou prozatím vhodným útočištěm před šířením invazních raků (Bubb a kol. 2008), jejichž postup do horních toků je výrazně pomalejší než postup po proudu (Bubb a kol. 2005, Hefti a Stucki 2006). Rak bělonohý je v některých částech Evropy silně ohrožený (Baric a kol. 2005b). V seznamu ohrožených druhů IUCN je rak bělonohý označen jako ohrožený druh. U raka kamenáče je v seznamu ohrožených druhů zaznamenáno pouze ubývání populací (IUCN 2010), ačkoli situace obou těchto komplexů je v rámci Evropy obdobná. Vzhledem k tomu, že rak bělonohý je západoevropským druhem, zatímco areál raka kamenáče zasahuje hluboko na jih do povodí Dunaje, není divu, že existuje podstatně více studií zabývajících se fylogeografií a geografickým rozložením genetické variability raka bělonohého než raka kamenáče.

Raci se obvykle živí jako všežraví detritofágové, v jejichž stravě převažuje rostlinný detritus, ale jsou schopni žít se i jako klasičtí býložravci a masožravci (Hogger a kol. 1988). Spojují tak více trofických úrovní a selektivitou jednotlivých trofických interakcí mohou výrazně ovlivnit uspořádání bentického společenstva. Většina račích druhů je navíc schopna si na měkkém substrátu kopat nory v břehu, což je další způsob, jakým mohou ovlivňovat ekosystém. Ztráta původního račího druhu nebo jeho nahrazení druhem nepůvodním může vést k výrazným změnám ve sladkovodním ekosystému (Hogger 1988). Původní račí druhy jsou navíc v některých částech Evropy tradičně loveni pro jídlo (Jusilla a Mannonen 2004). To jsou pragmatické důvody ochrany raků. A jak je popsáno v úvodu,



důležitou součástí vymezení ochranných strategií je porozumění geografickému rozložení genetické variability, které umožní určit oblasti či populace, které by měly být chráněny přednostně (Moritz 1994).

Taxonomie rodu *Austropotamobius* není v současnosti ještě zcela ustálená, ale jsou navrženy historické příčiny členění většiny fylogenetických linií. Rod *Austropotamobius* se člení na dva sesterské druhové komplexy. Těmi jsou druhový komplex raka bělonohého *A. pallipes* a raka kamenáče *A. torrentium*. Historickou událostí zodpovědnou za toto rozdělení bylo pravděpodobně oddělení moře Paratethys a pra-středozevního moře masou jadranské mikrokesy v druhé polovině Miocénu, v období před 8-12 miliony let. S tím souviselo i rozdělení propojeného povodí, které obývaly populace společného předka rodu *Austropotamobius*, do dvou velkých oddělených povodí (Trontelj a kol. 2005).

Oba druhové komplexy zahrnuté v rodu *Austropotamobius* mají podobnou fylogeografii. Pro oba je typická lokalizace hlavních glaciálních refugií a center diverzity na jihu Evropy a ochuzení genetické diverzity na sever a západ od Alp v důsledku rychlého znovuosídlení těchto oblastí po posledním zalednění (Trontelj a kol. 2005 a Santucci a kol. 1997). Oba mají rovněž velkou diverzitu méně rozlišených haplotypů v Alpské oblasti (Largiadèr a kol. 2000). Taková distribuce genealogických linií naznačuje typická jižní glaciální refugia a rychlé znovuosídlení Evropy po skončení poslední doby ledové (Hewitt 1996).

### 3.1 Fylogeografie druhového komplexu raka bělonohého *A. pallipes*

Druhový komplex *A. pallipes* je široce rozšířený v kontinentální Evropě od Dinárských Alp po Iberský poloostrov a Británii (Grandjean a Souty-Grosset 2000). Kvůli své velké vnitrodruhové variabilitě prošel komplex *A. pallipes* za posledních pět desetiletí mnoha taxonomickými revizemi (Pedraza-Lara a kol. 2010). Klasifikace na základě morfologických znaků (například Brodsky 1963 podle Schulz a Grandjean 2005) se jeví jako problematická, protože morfologické znaky se ukázaly jako nejasné a často zavádějící (Pedraza-Lara a kol. 2010). Většina změn v systematice druhového komplexu *A. pallipes* poslední doby se týká vnitřního uspořádání druhu *A. italicus* (Faxon, 1914) (Pedraza-Lara a kol. 2010).

Linie druhového komplexu *A. pallipes* se rozděluje na dvě linie odpovídající druhům *A. pallipes*, tato linie není v novějších studiích členěna na poddruhy, a *A. italicus*. Na tomto základním rozdělení se shodují studie založené na znacích morfologických (Brodsky 1963 podle Grandjean a kol. 2002) i studie založené na mitochondriálních genech (Santucci a kol. 1997, Grandjean a kol. 2002, Trontelj a kol. 2005, Chiesa a kol. 2010).

Na základě multilokusové analýzy jaderných genů metodou AFLP (amplified fragment length polymorphism) se u populací raka bělonohého z Itálie nepodařilo potvrdit rozdělení komplexu *A. pallipes* na druhy *A. pallipes* sensu stricto a *A. italicus*. Autoři této studie uznávají, že k vyvození konkrétních důsledků pro systematiku raka bělonohého bude zapotřebí dalších studií, proto tuto skutečnost zatím uvádím pouze jako možnou příčinu budoucích změn v systematice komplexu *A. pallipes* (Chiesa a kol. 2010).

K rozdělení druhového komplexu *A. pallipes* na druhy *A. pallipes* s. s. a *A. italicus* došlo pravděpodobně před 3-6 miliony let (Trontelj a kol. 2005). Předpokládá se, že v rozdělení těchto linií hrála hlavní roli geografická bariéra Přímořských Alp (Stefani a kol. 2011). Na západní straně tohoto pohorí, v jihovýchodní Francii, by se mělo nacházet předpokládané středomořské glaciální refugium druhu *A. pallipes*. Na východní straně v severní Itálii se předpokládá jedno z refugií *A. italicus* (Trontelj a kol. 2005). Přežívání ledových dob v oddělených refugiích mohlo vést k vytvoření nezávislých linií (Stefani a kol. 2011). Společný výskyt *A. pallipes* a *A. italicus* v severozápadní Itálii je pravděpodobně důsledkem sekundárního kontaktu (Fratini a kol. 2005). Předpokládané hlavní centrum šíření raka bělonohého a jeho další refugium se nalézají na poloostrově Istrii. Dalšími centry diverzity je oblast Alp a Apeninský poloostrov (Trontelj a kol. 2005).

### 3.1.1 Fylogeografie raka bělonohého *A. pallipes* sensu stricto

Druh *A. pallipes* s. s. se vyskytuje ve většině francouzských povodí, v povodích Rhôny a Rýnu ve Švýcarsku (na severní straně Alp), v jihozápadní části Německa, na Britských ostrovech a v severozápadní Itálii (Grandjean a kol. 2002, Souty-Grosset a kol. 2006, Fratini a kol. 2005).

Francie představuje největší část areálu *A. pallipes*. Francouzské populace *A. pallipes* se člení na dvě hlavní geograficky odlišené linie odpovídající úmořím Středozemního moře, jih Francie, a Atlantského oceánu, sever Francie (k atlantské linii patří i populace Britských ostrovů). To dokládá rozložení variability mitochondriální (Grandjean a Souty-Grosset 2000) i jaderné DNA (Gouin a kol. 2006). Toto rozdělení předpokládá existenci dvou oddělených refugií nebo dvou skupin mikrorefugií v průběhu poslední doby ledové. Jedno refugium se nacházelo pravděpodobně v úmoří Středozemního moře a druhé v úmoří Atlantského oceánu na západě Francie (Gouin a kol. 2006). Přibližný výskyt atlantské a středomořské linie v západní Evropě je na obrázku 1. Populace jižní skupiny mají větší mezipopulační variabilitu než populace skupiny severní (Gouin a kol. 2006). Podobné rozdělení na středomořské a atlantické linie bylo v západní Evropě zjištěno i u jiných sladkovodních druhů, například u velevruba malířského (Nagel 2000) a pstruha obecného (Bernatchez 2001). Genetická vzdálenost mezi račími populacemi v jednom povodí je často stejná nebo větší než mezi populacemi z různých povodí. To autoři vysvětlují pomocí dvou hypotéz (ty nejsou nutně alternativní, ale mohou částečně platit obě). První hypotéza předpokládá v rámci skupin šíření z jednoho refugia do více povodí a následné výrazné snížení genového toku mezi povodími. Druhá hypotéza předpokládá přenosy raků přes hranice povodí lidmi. Genetická variabilita takto vzniklých populací je nižší v důsledku efektu zakladatele (Gouin a kol. 2006).

Více autorů se shoduje, že v populacích raka bělonohého v západní Evropě převažuje mezipopulační genetická diverzita nad vnitropopulační, což naznačily analýzy na základě RFLP (Grandjean a kol. 1997) i polymorfismu alozymů (Lörtscher a kol. 1997, Santucci a kol. 1997).



Obrázek 1: Přibližný areál hlavních linií druhu raka bělonohého. Areál atlantské linie zahrnuje i Británii (bez Skotska) a Irsko, kam byl introdukován člověkem (není na mapě). Výskyt středomořské linie sahá i na SZ Itálie. Obě linie se setkávají i ve Švýcarských Alpách, což je na mapě pouze naznačeno. Mapa je vypracovaná podle Grandjean a Souty-Grosset (2000), Gouin a kol. (2006) a Stefani a kol. (2011).

Mezi populacemi druhu *A. pallipes* byl nalezen jen jeden haplotyp COI genu (Trontelj a kol. 2005), což je překvapující vzhledem k tomu, že Trontelj a kol. (2005) zahrnuli do své studie populace patřící k atlantské i středomořské linii. U raka kamenáče na sever od Alp našli Trontelj a kol. (2005) nižší variabilitu u COI genu než Schubart a Huber (2006), podle kterých Trontelj a kol. (2005) použili při studiu genetické variability rodu *Austropotamobius* sekvenci COI genu zkrácenou o několik variabilních pozic, což mělo za následek zjištění menšího počtu haplotypů.

K jižní skupině populací *A. pallipes* patří i populace ze severozápadu Itálie. Pomocí variability mitochondriálního genu pro COI byla zkoumána fylogeografie populací *A. pallipes* s. s. na obou stranách Přímořských Alp, tedy mezi jihovýchodní Francií a severozápadní Itálií (v povodí řeky Pádu). Překvapivě nebyla odhalena žádná genetická struktura oddělující dvě předpokládané skupiny populací na západní a východní straně Přímořských Alp. Francouzské i italské populace měly srovnatelnou nukleotidovou i haplotypovou diverzitu. Tři ze čtyř haplotypů ze dvou zkoumaných francouzských populací, včetně toho nejrozšířenějšího, byly nalezeny i v italských populacích. Haplotypová mapa 12 haplotyp měla hvězdovitou topologii s nejčastějším haplotypem na obou stranách Přímořských Alp. U studovaných populací převládala vnitropopulační variabilita nad mezipopulační (Stefani a kol. 2011).

Výsledky Stefani a kol. (2011) jsou zářející mimo jiné i proto, že Alpy jsou migrační bariérou, u které se předpokládá že je zodpovědná za rozdělení linií druhů *A. italicus* a *A. pallipes*. Předpokládá se proto, že za současný stav jsou alespoň zčásti zodpovědní lidé přenášející raky (Stefani a kol. 2011). Výsledky (Stefani a kol. 2011) také vyvracejí starší návrh na uznání samostatného poddruhu *A. pallipes bispinosus* s výskytem na severozápadě Itálie. Tento poddruh byl nejdříve navržen ve studii morfologických znaků (Brodsky 1963 podle Fratini a kol. 2005) a později ve studii genetické variability (Fratini a kol. 2005).

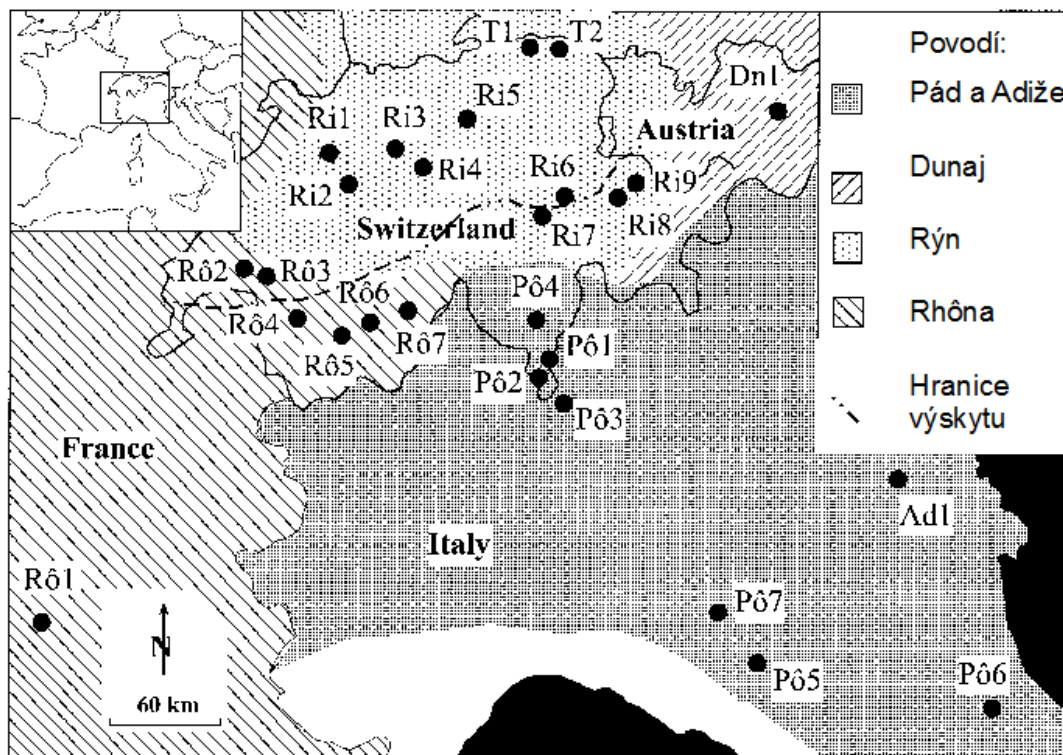
Migrační bariéra Alp ovlivnila fylogeografii více sladkovodních druhů zejména ryb. Příkladem může být jelec tyrhénský *Telestes multicellus* (Zaccara a kol. 2007), nebo lipan *Thymallus* (Weiss a kol. 2002).

Atlantská linie raka bělonohého se vyskytuje i na Britských ostrovech. Rak bělonohý je jediný původní račí druh v Británii, ale nevyskytuje se ve Skotsku (Holdich a kol. 1997). Podmínky poslední doby ledové, kdy byl v jižní Británii permafrost (Albrecht 1982 podle Grandjean a kol. 1997b), neumožnily rakům v Británii přežít. Anglické populace pochází z Francie, jak bylo potvrzeno porovnáním dvou studií zabývajících se variabilitou mtDNA mezi francouzskými (Grandjean a Souty-Grosset 1996) a mezi anglickými populacemi (Grandjean a kol. 1997b). Mezi populacemi z Anglie a Walesu byly nalezena tři blízké příbuzné haplotypy, jeden běžný a dva vzácné (Grandjean a kol. 1997b). Blízká příbuznost francouzských a anglických populací byla zjištěna i dalšími metodami: analýzou polymorfismu alozymů (Santucci a kol. 1997) a RAPD analýzou jaderné DNA (Gouin a kol. 2001). Přirozeným způsobem se mohl rak bělonohý rozšířit z Francie do Anglie díky propojení vodních toků na konci poslední doby ledové (Grandjean a kol. 1997b). Nízký počet haplotypů se vysvětluje tím, že ke kolonizaci Británie došlo až po poslední době ledové a tudíž nebyl dostatek času pro vytvoření stejné genetické diverzity jako v jiných částech areálu *A. pallipes* s. s. (Grandjean a Souty-Grosset 1996).

Rak bělonohý je nepůvodní a jediný druh raka v Irsku a je zde relativně běžný (Reynolds 1997). Antropogenní původ raka bělonohého v Irsku je podložen více fakty. V průběhu maxima poslední doby ledové bylo Irsko zcela pokryto ledem a na jejím konci bylo rychle odděleno od Evropy a Anglie mořem (Coxon 2001 podle Gouin a kol. 2003), které je pro raka bělonohého nepřekonatelnou překážkou (Reynolds a kol. 1997). První historické záznamy o výskytu raků v Irsku pochází až z roku 1680 (Lucey 1999 podle Gouin a kol. 2003). Antropogenní původ raka bělonohého v Irsku navíc potvrdilo i studium genetické variability (Gouin a kol. 2003 a Grandjean a Souty-Grosset 2000). Mezi irskými populacemi byl nalezen jen jeden mtDNA haplotyp, který je totožný s jedním ze čtveřice vzácných haplotypů z povodí řek Charentes a Sèvre Niortaise na západě Francie (Grandjean a Souty-Grosset 2000).

Fylogeografie sladkovodních živočichů v alpské oblasti je zajímavá, protože zde začíná pět významných evropských povodí (povodí řek Rhôny, Rýnu, Adiže, Pádu a Dunaje), která od sebe Alpy ve větší či menší míře izolují (Largiadèr a kol. 2000). V alpské oblasti byla zjištěna největší diverzita mitochondriálních haplotypů raka bělonohého (Largiadèr a kol. 2000, Trontelj a kol. 2005). Pomocí výzkumu variability alozymů i mitochondriálních genů bylo potvrzeno rozdělení alpských populací druhu *A. pallipes* na severní (populace z Rýnu a Rhôny na severu Švýcarska) a jižní (populace

z horního toku Rýnu) linii (Largiadèr a kol. 2000, Lortscher a kol. 1997 a 1998). Navíc se v jadranských povodích (řeky Pád a Adiže) vyskytují populace druhu *A. italicus* (Largiadèr a kol. 2000). Bylo tedy nalezeno geografické rozložení tří hlavních geograficky oddělených linií (výskyt tří linií raka bělonohého v Alpách je vidět na obrázku 2), ty se měly fylogeneticky i geograficky oddělit v období před 10000 lety v průběhu poslední doby ledové (Largiadèr a kol. 2000).. Nicméně ve třech výše zmíněných studiích jsou uvedeny i případy jednotlivých populací vyskytujících se mimo areál své linie. Obvykle šlo o výskyt populací *A. italicus* na severní straně Alp. Autoři to připisují přenášení raků lidmi (Largiadèr a kol. 2000, Lortscher a kol. 1997 a 1998).



Obrázek 2: Hlavní povodí alpské oblasti a hranice výskytu mezi atlantskou (severní) a středomořskou linií (jižní) *A. pallipes* s. s. Populace z povodí řek Pádu a Adiže patří ke druhu *A. italicus*. Body jsou jednotlivé populace zahrnuté ve studii popsané zkratkou řeky, ze které pochází a číslem (Zkratky názvů řek jsou Pô-Pád, Rô-Rhône, Ad-Adiž, Ri-Rýn, T-označuje dvě populace raka kamenáče). Upraveno podle Largiadèr a kol. (2000).

### 3.1.2 Fylogeografie raka bělonohého *A. italicus*

Druh *Austropotamobius italicus* má nesouvislý areál v jižní Evropě. Vyskytuje se v Itálii, na jižní straně Alp, v jadranských povodích Dalmácie a na Iberském poloostrově (Fratini a kol. 2005, Grandjean a kol. 2000, Souty-Grosset a kol. 2006). K sekundárnímu kontaktu populací *A. italicus* s jejich sesterským druhem *A. pallipes* došlo v povodí Pádu na severu Itálie, kde se *A. pallipes* s. s. vyskytuje jen v západní části povodí (Zaccara a kol. 2005).

Druh *Austropotamobius italicus* má nejasné vnitřní členění. Návrh členění podle 16S rRNA genu rozděluje druh *A. italicus* na dvě dvojice poddruhů (Grandjean a kol. 2002, Fratini a kol. 2005). První

dvojice poddruhů je *A. i. italicus* a *A. i. carinthiacus*, druhá dvojice se skládá z poddruhů *A. i. carsicus* a *A. i. meridionalis* (Fratini a kol. 2005). Novější studie kombinující analýzu variability dvou úseků mitochondriálního genu pro podjednotku cytochrom oxidázy jedna COI a variabilitu 16S rRNA genu potvrdila rozdělení druhu *A. italicus* na dvě hlavní linie. V jedné z těchto linií lze rozeznat dříve popsany poddruh *A. i. italicus*, který je součástí parafiletického taxonu odpovídajícímu dříve popsanému poddruhu poddruhu *A. i. carinthiacus*. Druhá linie zahrnuje poddruhy *A. i. meridionalis* a *A. i. carsicus*, ty však od sebe nelze na základě analýzy mtDNA rozlišit (Pedraza-Lara a kol. 2010). Fylogenetický strom ukazující členění linií druhu *A. italicus* podle mitochondriálního 16S rRNA genu je na obrázku 3.

Já budu dále v textu pracovat s členěním autorů Pedraza-Lara a kol. (2010). Vzhledem k tomu, že poddruhy *A. i. carinthiacus* a *A. i. italicus* lze v jejich společné linii rozlišit, budu o nich při citování některých studiích z důvodu zjednodušení psát jako o samostatných liniích. O linii sdružující dříve popsané poddruhy *A. i. meridionalis* a *A. i. carsicus* budu psát jako o linii *A. i. carsicus-meridionalis* s ohledem na to, že pro tuto linii nebyl dosud navržen taxonomický název.

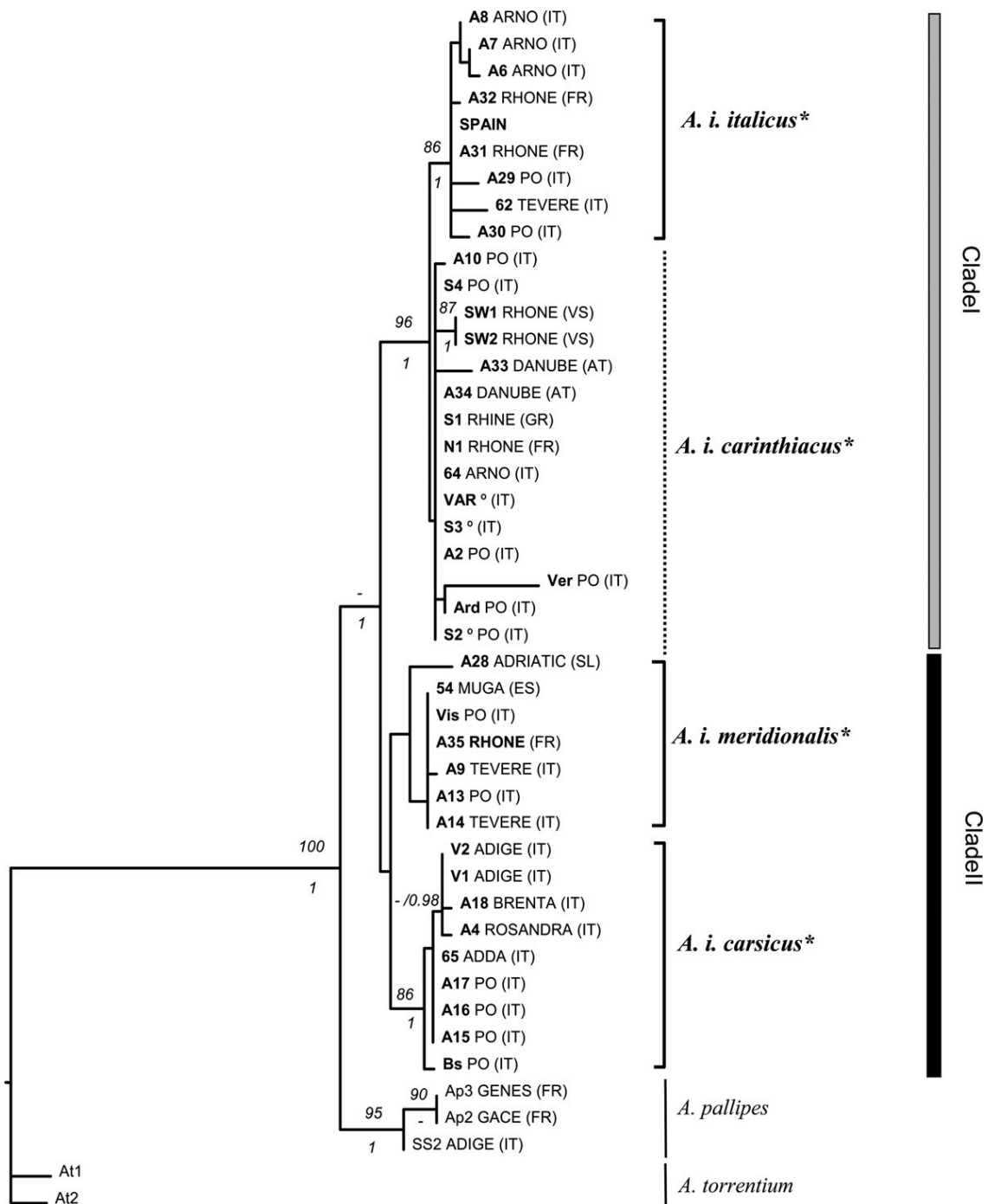
Linie *A. i. meridionalis-carsicus* má souvislý areál v jižní, střední a severovýchodní Itálii a na severozápadě Balkánu (Cataudella a kol. 2010). Linie tvořená poddruhy *A. i. italicus* a *A. i. carinthiacus* se vyskytuje v centrálních Apeninách a ve Španělsku (*A. i. italicus*) a ve střední a severozápadní Itálii v západní části povodí Pádu, v Rakousku a Švýcarsku (*A. i. carinthiacus*) (Fratini a kol. 2005). Na obrázku 4 je toto rozšíření dvou hlavních linií ukázáno.

Výskytu druhu *A. italicus* v alpské oblasti a dvěma výskytům tohoto druhu na severní straně Alp se věnují další studie. Šest původních populací *A. i. carinthiacus* v jižním Tyrolsku (sever Itálie) a velmi pravděpodobně lidmi vysazená populace v rakouském jezeře Plansee, v povodí Dunaje, byly téměř monomorfní ve dvou segmentech mitochondriálních genů, pro cytochrom oxidázu I a 16S rRNA. Variabilita čtyř mikrosatelitových lokusů se ale mezi těmito populacemi lišila. Ve čtyřech populacích (v jižním Tyrolsku) byla zaznamenána i vyšší vnitropopulační variabilita mikrosatelitů. Současný stav rozložení genetické diverzity *A. i. carinthiacus* v jižním Tyrolsku je s velkou pravděpodobností způsoben recentní izolací populací a jejich zmenšením (Baric a kol. 2005b), ke kterému vedly lidské zásahy v krajině Tyrolska během posledních dvou století (Füreder a kol. 2003).

Kromě populace *A. i. carinthiacus* v jezeře Plansee se v Rakousku vyskytují mimo svůj původní areál i tři populace linie *A. i. carsicus-meridionalis* v Korutanech na jihu Rakouska. U populací z Korutan i jezera Plansee byla zjištěna velmi nízká genetická variabilita (podle mitochondriálního 16S rRNA genu a mikrosatelitů). U druhu *A. italicus* se navíc nepředpokládá přirozený výskyt na severní straně Alp. Tyto populace byly pravděpodobně vysazeny lidmi (Baric a kol. 2005a a Baric a kol. 2006), což je v případě populací z Korutan podporováno i historickými údaji. První záznam o přítomnosti raka bělonohého v Korutanech pochází až z přelomu 19. a 20. století (Machino a kol. 2004 podle Baric a kol. 2006).

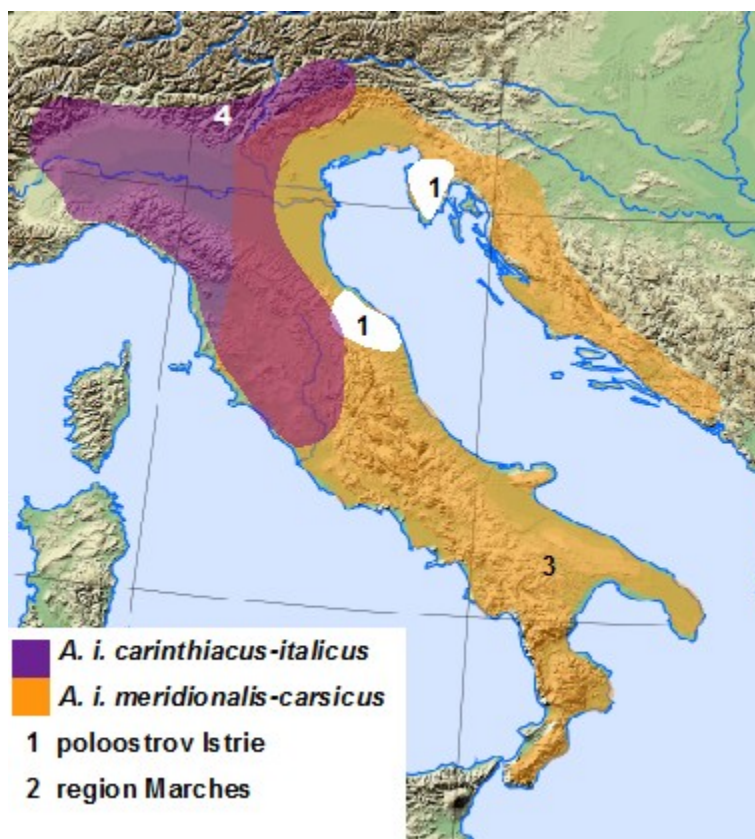
V Itálii se vyskytují všechny hlavní linie komplexu *A. pallipes* a Apeninský poloostrov je jedním z center diverzity tohoto komplexu. Rozšíření jednotlivých linií *A. italicus* neodpovídá tradičním italským ichtyogeografickým oblastem (Fratini a kol. 2005). Ty jsou tři: Pádsko-Benátská oblast (sever Itálie a východ střední Itálie), oblast Toskánska-Latia (západ střední Itálie) a oblast jižní Itálie (Bianco

1995). Rak bělonohý mohl překonat hranice povodí díky lokální deskové tektonice v Apeninách po poslední době ledové, kdy došlo k dočasnému uzavření a propojení některých horních toků (Cattauro a kol. 1988 podle Fratini a kol. 2005).



Obrázek 3: Fylogeogenetický strom odvozený metodou analýzy maximální pravděpodobnosti podle dat o variabilitě mitochondriálního 16S rDNA genu mezi populacemi *A. italicus*. Ukazuje rozdělení druhu *A. italicus* na dvě hlavní linie (Clade I a Clade II). Clade I zahrnuje linie *A. i. carinthiacus* a *A. i. italicus* (ve výsledcích (Pedraza-Lara a kol. 2010) které kombinují data mitochondriálních 16S rRNA a COI genu je linie *A. i. italicus* součástí parafiletické linie *A. i. carinthiacus*). Clade II zahrnuje linie *A. i. carsicus* a *A. i. meridionalis*. Převzato z Pedraza-Lara a kol. (2010).





Obrázek 4: Areály dvou hlavních linií druhu *A. italicus* na Apeninském poloostrově a přilehlých částech jižní Evropy. Na severu oblasti Marches a na poloostrově Istrii se nalézají dvě z glaciálních refugií raka bělonohého. Číslo 3 a 4 označují další předpokládané refugiální oblasti *A. italicus*. 3-oblast jižní Itálie. 4-jih alpské oblasti. Mapa byla vytvořena podle následujících publikací: Cataudella a kol. (2010), Grandjean a kol. (2002), Holdich (2002), Pedraza-lara a kol. (2010) a Trontelj a kol. (2005).

Povodí řeky Pád v severní Itálii je fylogeograficky zajímavé z toho důvodu, že je ze severu i z jihu ohraničeno pohořími Alp a Apenin, které tvoří migrační bariéry pro sladkovodní organismy s malou schopností disperse. V povodí řeky Pád se vyskytují populace linie zahrnující dříve uznávané poddruhy *A. i. italicus* a *A. i. carinthetaicus*. Tyto populace jsou rozlišitelné na dvě linie, podle mitochondriálního genu pro COI, lišící se podle autorů na poddruhové úrovni. Na většině území povodí Pádu se vyskytovaly populace poddruhu *A. italicus*, v řece Adda, což je nejvýchodnější přítok Pádu zahrnutý v citované studii, byly nalezeny populace poddruhu *A. i. carinthetaicus*. (Zaccara a kol. 2005). Autoři této studie vycházeli z předpokladu, že jde o dva oddělené poddruhy a jejich oddělení vysvětlovali alopatickou divergencí v pleistocénu, kdy populace společného předka mohly přežít zalednění ve dvou různých refugiích (Zaccara a kol. 2005). Poddruhy *A. i. italicus* a *A. i. carinthetaicus* jsou ale součástí jedné linie (Pedraza-Lara a kol. 2010) a tak je pravděpodobnější předpoklad jednoho společného refugia, které pro tento druh navrhli Fratini a kol. (2005),

Na Apeninském poloostrově je jedna z klasických oblastí glaciálních refugií evropské flóry a fauny (Hewitt 1996). Na severu, ve středu a na jihu Itálie více autorů předpokládá glaciální refugium pro obě



hlavní linie druhu *A. italicus* (Cataudella a kol. 2010, Fratini a kol. 2005, Zaccara a kol. 2005). Pozice jednoho z těchto možných refugií byla přesněji navržena na severu italské provincie Marches, jež se nachází na východním břehu střední Itálie. Refugium je zde autory předpokládáno na základě nejvyšší naměřené nukleotidové a haplotypové diverzity mezi italskými vzorky. Haplotypová a nukleotidová diverzita byla měřena podle mitochondriálního 16S rRNA genu a COI genu (Cataudella a kol. 2010).

Zajímavostí je, že autoři našli na severu oblasti Marches linii COI haplotypů blízce příbuznou jedné z linií z poloostrova Istrie. Autoři usoudili, že jde o výsledek lidské introdukce, která je pravděpodobnější než alternativní možnost. Druhá hypotéza původu istrijské linie na severu Marches zvažuje možnost, že předci těchto populací překonali Jaderské moře přes pevninský most, který spojoval střední Itálii a poloostrov Istrie na konci poslední doby ledové v důsledku snížení hladiny moře. V takovém případě by se do svého nového středoitalského areálu raci dostali mnohem dříve, než v případě vysazení lidmi, a mezi jejich potomky by podle názoru autorů studie měla být zjištěna větší genetická variabilita (Cataudella a kol. 2010).

Dalším navrhovaným refugiem *A. italicus* je oblast jižní Itálie (Santucci a kol. 1997, Fratini a kol. 2005). Návrh tohoto refugia souvisí s předpokladem odlišnosti jižních populací *A. italicus*. Této odlišnosti si poprvé všiml na základě studia diversity alozymů Santucci a kol. (1997). V mladší studii zkoumající variabilitu mitochondriálního 16S rRNA genu byla velmi malá skupina populací z jižní Itálie a Slovinska označena za samostatný poddruh *A. i. meridionalis* s nespojitým areálem (Fratini a kol. 2005). Novější studie ukázaly, že linie *A. i. meridionalis* je součástí linie *A. i. carsicus-meridionalis* se souvislým výskytem od jižní Itálie po Slovinsko (Cataudella a kol. 2006 a Cataudella a kol. 2010). I když tedy byly příčiny hypotetické potřeby jihoitalského refugia pozdějšími studiemi vyvráceny, nelze jeho možnou existenci jednoznačně vyloučit.

Další vícekrát navržené glaciální refugium linie *A. italicus carsicus-meridionalis* se nalézá na severozápadě Balkánu (Fratini a kol. 2005, Trontelj a kol. 2005, Zaccara a kol. 2005) pravděpodobně na chorvatském poloostrově Istrie (Trontelj a kol. 2005). Na tomto poloostrově je zároveň jedno ze tří center diverzity a předpokládané hlavní centrum šíření komplexu *A. pallipes* (Trontelj a kol. 2005).

Nízká genetická variabilita španělských populací *A. i. italicus* zjištěná (Grandjean a kol. 2001, Trontelj a kol. 2005) a jejich blízká příbuznost s italskými populacemi (Grandjean a kol. 2001, Trontelj a kol. 2005, Beroiz a kol. 2008, Diéguez-Urbeondo 2008) ) vedla k navržení hypotézy nepřírozeného původu raka bělonohého ve Španělsku v důsledku vysazení tohoto raka lidmi (Grandjean a kol. 2001, Trontelj a kol. 2005). Pomocí RAPD metody a variability mitochondriálního genu pro COI byla studována genetická variabilita španělských populací *A. i. italicus*. Populace se rozdělily do dvou hlavních geograficky odlišených skupin. Jedna skupina slučovala populace na severu Iberského poloostrova. Druhá skupina slučovala populace z jihu, východu a středu poloostrova. Toto rozdělení částečně odpovídá výskytu populací v povodích atlantských (všechny populace severní skupiny) a středomořských (většina populací jižní skupiny) (Beroiz a kol. 2008 a Diéguez-Urbeondo a kol. 2008). Vyšší genetická variabilita zjištěná v novějších studiích a její geografické rozložení svědčí spíše pro přirozený původ raka bělonohého na Iberském poloostrově (Pedraza-Lara a kol. 2010). Zjištěná nízká nukleotidová variabilita je vysvětlena možnou silným snížením výskytu raka bělonohého ve Španělsku v průběhu poslední doby ledové jen na několik populací (Pedraza-Lara a kol. 2010).

Předpokládá se, že druh *A. italicus* měl původně spojitý areál v jižní Evropě (Santucci a kol. 1997, Diéguez-Urbeondo a kol. 2010). Podle výpočtu z fylogenetické analýzy došlo k divergenci italských a španělských populací *A. italicus* před přibližně 34000 lety (Pedraza-lara a kol. 2010). V tomto období mělo dojít i k vysychání jižní Evropy, které předcházelo maximu poslední doby ledové (Wu a kol. 2007). Toto vysychání mohlo vést k rozpadu areálu *A. i. italicus* mezi Alpami a Pyrenejemi (Pedraza-lara a kol. 2010).

Podobný nesouvislý výskyt v Itálii a Španělsku jako *A. i. italicus* pravděpodobně způsobený ledovými dobami mají i jiné druhy organismů. Například dva poddruhy mloka *Salamandra salamandra* (Steinfartz a kol. 2000), nebo dva druhy zajíce *Lepus* (Alves a kol. 2008).

### 3.1.3 Shrnutí fylogeografie druhového komplexu *Austropotamobius pallipes*

Druhový komplex raka bělonohého *Austropotamobius pallipes* je předmětem intenzivního fylogografického bádání. Z mnoha lokálních i rozsáhlejších studií lze sestavit celkový obraz jeho fylogeografie, která byla silně ovlivněna lidskými zásahy a pleistocénními klimatickými oscilacemi, jejichž nepříznivá období zalednění přečkal druhový komplex raka bělonohého ve více refugiích.

Většina předpokládaných refugií raka bělonohého patří mezi klasická jižní refugia. Umístění některých z těchto klasických refugií zároveň koreluje s umístěním center diverzity. Centra diverzity komplexu *A. pallipes* jsou v alpské oblasti, kde je největší haplotypová diverzita, na Apeninském poloostrově a na poloostrově Istrie, kde je předpokládáno primární centrum šíření raka bělonohého (Trontelj a kol. 2005). Jediné „severní“ refugium je předpokládáno pro atlantskou linii raka bělonohého v západní Francii, *A. pallipes pallipes* (Gouin a kol. 2006).

Fylogeografie raka bělonohého potvrzuje i obecný předpoklad funkce Alp a Pyrenejí jako migračních bariér. To je vidět například z rozšíření druhu *A. italicus*, kterému se nepodařilo Alpy překonat při šíření z předpokládaných refugií v Itálii (Cataudella a kol. 2010). Význam Alp jako migrační bariéry je potvrzen i rozdělením alpských populací raka bělonohého na jižní (*A. italicus*) a severní (*A. pallipes*) linie (Largiadér a kol. 2000). Migrační bariéra Pyrenejí je potvrzena rozšířením *A. i. italicus*, kterému se nepodařilo překonat Pyreneje při šíření z jednoho z předpokládaných refugií na Pyrenejském poloostrově (Pedraza-Lara a kol. 2010).

Západoevropská linie raka bělonohého, *A. pallipes pallipes*, kolonizovala svůj současný areál ze dvou refugií ve Francii. *A. pallipes* s. s. se šířil z refugia atlantského na západě Francie a refugia středomořského na jihovýchodě Francie (Gouin a kol. 2006). Populacím šířícím se ze středomořského refugia se podařilo překonat Přímořské Alpy, což vyústilo v dnešní sekundární kontakt s druhem *A. italicus* na severu Itálie (Cataudella a kol. 2010). Do Británie se raci z této linie dostali pravděpodobně přirozeně díky propojení francouzských a britských povodí na konci poslední doby ledové (Grandjean a kol. 1997b). V Irsku byl rak bělonohý vysazen lidmi (Gouin a kol. 2003).

Klesající hladina moře v průběhu poslední doby ledové vedla ke vzniku pevninského mostu mezi střední Itálií a Balkánským poloostrovem. Migrace přes tento most byla uvažována při vysvětlování rozšíření některých linií *A. italicus* (Fratini a kol. 2005 a Cataudella a kol. 2010). Pravděpodobnější alternativní vysvětlení předpokládá přenos raků z Balkánu do Itálie lidmi (Cataudella a kol. 2010).

### 3.2 Fylogeografie raka kamenáče *Austropotamobius torrentium*

Areál komplexu raka kamenáče *A. torrentium* se téměř nepřekrývá s areálem komplexu raka bělonohého. Sahá z východní Francie a Lucemburska přes střední Evropu, oblast Alp a severovýchodní Itálii a dál přes většinu Balkánu do severního Řecka, Bulharska a černomořských povodí evropské části Turecka. Ve střední Evropě se rak kamenáč vyskytuje hlavně v povodí Dunaje s přesahy do povodí Rýna a Labe (Schubart a Huber 2006).

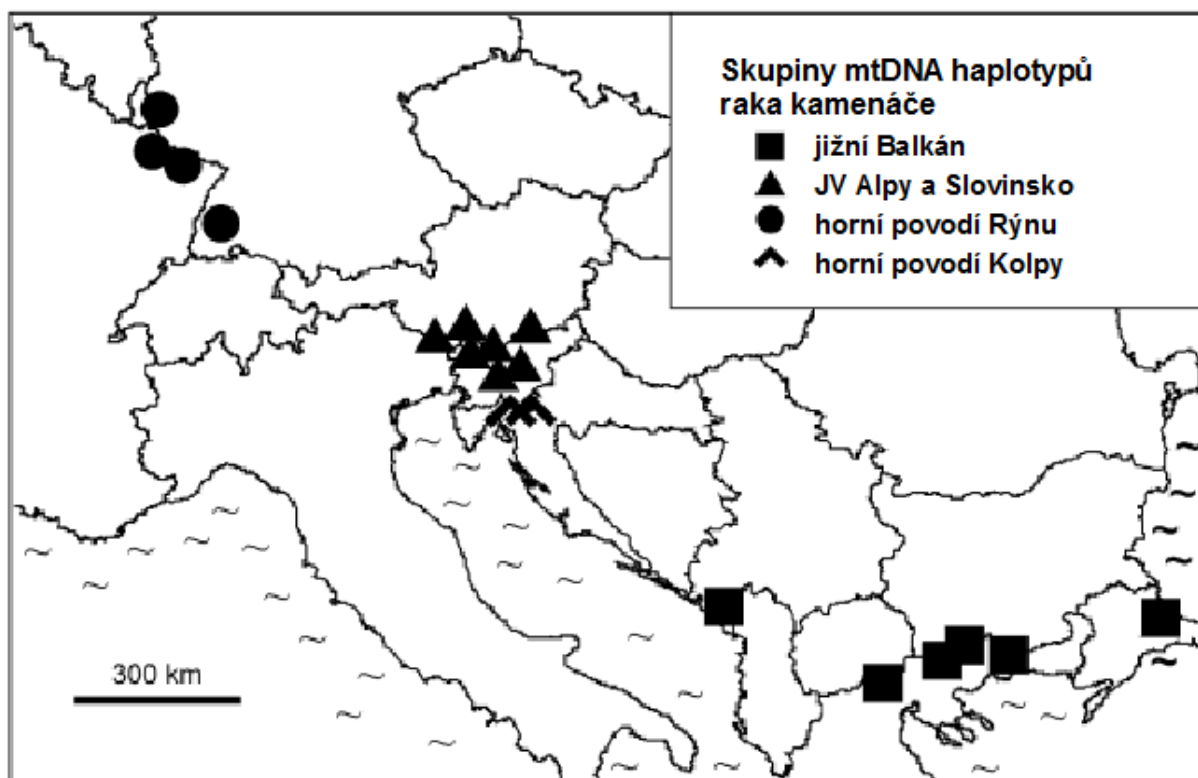
Nejstarším rozdělením linie komplexu raka kamenáče podle mtDNA COI genu je oddělení linie, která byla dosud nalezena jen v několika populacích v horním povodí řeky Kolpa na severozápadních hranicích Chorvatska se Slovinskem (Trontelj a kol. 2005). Tato linie je možná kryptickým druhem, k jeho oddělení došlo pravděpodobně před 6-9 miliony let (Trontelj a kol. 2005). V této oblasti bylo nalezeno více podobně divergentních populací (Maguire a Klobučar 2009) a publikace dalších výsledků pravděpodobně povede ke změnám v taxonomii komplexu raka kamenáče.

Na jihu Balkánu se nachází centrum diverzity ostatních linií *A. torrentium* a pravděpodobně i jejich glaciální refugium. Vyskytuje se zde šest linií, doba jejich rozdělení je odhadována před 3-4 miliony let<sup>1</sup>. Topologie haplotypové mapy těchto 6 linií má hvězdovitý tvar. Jediná balkánská linie, která kolonizovala Střední Evropu, je sesterská k linii turecké, od které se oddělila pravděpodobně před dvěma miliony let. Další skupina s větším počtem blízkce příbuzných haplotypů se nalézá na jihovýchodě alpské oblasti. V oblasti se Alp se předpokládají možná glaciální mikrorefugia raka kamenáče (Trontelj a kol. 2005). Geografická distribuce hlavních skupin haplotypů raka kamenáče je na mapě 5.

Ve střední Evropě na sever od Alp byla pozorována při analýze mitochondriálního genu pro COI snížená genetická diverzita populací raka kamenáče (Trontelj a kol. 2005) (na obrázku 5 jsou středoevropské populace ukázány jako součást skupiny haplotypů povodí horního toku Rýnu). Toto pozorování bylo částečně potvrzeno při studii zahrnující převážně populace z jižního Německa a také několika dalších evropských zemí. Všechny německé, jedna švýcarská a jedna rakouská populace, a to z povodí Rýna i Dunaje, sdílely jeden společný haplotyp genu pro 16S rRNA (Schubart a Huber 2006). Pomocí mitochondriálního genu pro COI byla nalezena větší variabilita (Schubart a Huber 2006), což není překvapivé vzhledem k tomu, že gen pro COI je variabilnější než gen pro 16S rRNA (Verovnik a kol. 2004). V jihovýchodním Bavorsku byla objevena skupina tří vzácných blízkce příbuzných COI haplotypů. Ostatní studované populace na sever od Alp sdílely jeden COI haplotyp (Schubart a Huber 2006).

---

<sup>1</sup> Odhady dob divergencí vychází z molekulárních hodin, které byly použity u jiných desetinných korýšů a pro rod *Austropotamobius* pouze převzaty, proto by měly být chápány skutečně jen jako odhady (Trontelj a kol. 2005).



Obrázek 5: Geografická distribuce skupin COI haplotypů raka kamenáče v Evropě. V povodí horního toku řeky Kolpy se nalézají populace nejodlišnějších (možná na úrovni druhu) linií raka kamenáče. Na jižním Balkánu se nachází největší počet linií vlastního druhu *A. torrentium*. Populace jihovýchodních Alp mají vysokou haplotypovou diverzitu. V horním povodí Rýnu se vyskytuje odlišitelná skupina středoevropských haplotypů. Mapa upravena podle Trontelj a kol. (2005).

Dříve se spekovalo, že populace raka kamenáče v povodí Labe jsou nepůvodní (Machino a Füreder 2005), což však recentní výzkum distribuce raka kamenáče v české části povodí Labe (Vlach a kol. 2010) a jedné populace v Sasku v blízkosti Drážďan, která bylo nedávno objevena (Martin a kol. 2007), a výzkum genetické diverzity v povodí Labe (Petrusek a kol. 2009) vyvrací. Spíše se zdá, že se jedná o postglaciální kolonizaci povodí Berounky překročením hranice povodí někde v Českém lese a následné šíření povodím Labe (Petrusek a kol. 2009). České populace jsou příbuzné s populacemi z Bavorska, kde je předpokládán původ našich populací (Petrusek a kol. 2009). Výjimkou je populace z podhorského Lučního potoka v Krkonoších, jejíž haplotyp je znám pouze ze Slovinska a lze předpokládat, že je tato populace introdukovaná (Petrusek a kol. 2009).

V důsledku méně intenzivního výzkumu nejsou informace o fylogeografii a geografickém rozložení genetické variability raka kamenáče tak podrobné jako informace o sesterském komplexu raka bělonohého. Jsou známy základní informace o fylogeografii raka kamenáče ve střední Evropě (Schubart a Huber 2006, Petrusek a kol. 2009) a na jihu Evropy (Trontelj a kol. 2005) a základní rozdělení na velké genealogické linie (skupiny haplotypů) (Trontelj a kol. 2005). Je známo centrum diverzity na jihu Balkánu (Trontelj a kol. 2005) a identifikována byla možná glaciální refugia. Ta jsou předpokládána na jihu Balkánu a na severu Dinárské oblasti. Také se předpokládají glaciální mikrorefugia v oblast Alp (Schubart a Huber 2006, Trontelj a kol. 2005). Balkánské linie osídlily střední

Evropu hlavní migrační cestou skrz povodí Dunaje, ze kterého kolonizovaly i povodí Labe a Rýna (Trontelj a kol. 2005).

Setkání areálů raka kamenáče a raka bělonohého *Austropotamobius pallipes* s. s. ve střední Evropě na sever od Alp (Trontelj a kol. 2005) splňuje předpoklad středoevropské linie sekundárního kontaktu v důsledku šíření z jihozápadních a jihovýchodních evropských refugií (Taberlet a kol. 1998). Datování rozdělení dvou hlavních druhových komplexů rodu *Austropotamobius* do období před poslední dobou ledovou (Trontelj a kol. 2005) je rovněž v souladu s obecně pozorovaným členěním hlavních linií na úrovni druhů před začátkem pleistocénních klimatických oscilací (Taberlet a kol. 1998).

#### 4 Fylogeografie raka říčního *Astacus astacus*

Rak říční *Astacus astacus* patří do rodu *Astacus*, který je sesterským rodem rodu *Austropotamobius*. Rod *Astacus* zahrnuje i další dva druhy: *A. leptodactylus* a *A. pachypus*. *A. leptodactylus* má původní areál na jihovýchodě Evropy a v Anatolské plošině v Turecku, byl také introdukován do více evropských zemí na západ od svého přirozeného areálu (Holdich 2002). *Astacus pachypus* se vyskytuje v Kaspickém moři a některých povodích patřících ke Kaspickému, Azovskému a Černému moři (Holdich 2002). Taxonomické členění rodu *Astacus* je nejasné (Skurdal a Taugbøl 2002). Fylogeografie ani genetická variabilita východoevropských raků z komplexu *A. leptodactylus* a *A. pachypus* nebyla doposud studována, proto se v této kapitole budu dále věnovat jen rakovi říčnímu.

Areál raka říčního sahá ze severního Řecka přes celý Balkán, celou střední a západní Evropu, Skandinávii a velkou část východní Evropy až k Bílému moři na severu (Holdich 2002). Rod *Astacus* je sesterským rodem rodu *Austropotamobius* v čeledi Astacidae. Lidské zásahy činí rekonstrukci kolonizace Evropy rakem říčním po konci posledního glaciálu velmi obtížnou (Holdich a kol. 2002).

V současnosti je rak říční na červeném listu ohrožených druhů uveden jako zranitelný druh (IUCN 2010). V České republice je rak říční hodnocen jako ohrožený druh (Štambergová a kol. 2005). V důsledku račích moru byl na přelomu 19. a 20. století rak říční v České republice téměř vyhuben a v následujících letech byl vysazen na mnoha lokalitách lidmi, takže je dnes velmi těžké určit jeho původní areál (Štambergová a kol. 2009). Současný areál pokrývá celou Českou republiku (Štambergová a kol. 2009). V Německu (Schulz a kol. 2004) i Skandinávii (Alaranta a kol. 2006) byl pozorován velký úbytek populací tohoto druhu v důsledku račích moru přenášeného invazními druhy raků a změn habitatů. V Německu se to odráží ve fragmentaci areálu a ústupu raka říčního do horních toků a malých izolovaných jezer a umělých nádrží, přestože tento druh jinak dokáže obývat i teplejší a méně čisté vody (Schulz a kol. 2004). Ve Skandinávii, kde existuje dlouholetá tradice komerčního i rekreačního lovu raků, se úbytek chovaných i divokých populací silně projevil ve snížení výnosů lovu raka říčního, i když se současně zvyšují výnosy raka signálního (Jussila a Mannonen 2004).

Z Balkánu do zbytku Evropy se rak říční mohl šířit podobnými cestami jaké byly popsány u berušky vodní (Verovnik a kol. 2005) nebo raka kamenáče (Trontelj a kol. 2005), tedy hlavně cestou z Balkánu povodím Dunaje do střední Evropy (Schrimpf a kol. v tisku). Nicméně původ tohoto druhu ve východní Evropě a severním Německu není zcela jasný (Schulz a kol. 2004). Ani původ raka říčního ve

Skandinávii není zcela jistý. Fosilní záznam dokládá, že je původním druhem jižního Finska a v jiných částech Skandinávie by mohl být vysazený lidmi (Edsman a kol. 2002).

Ve velkoplošné studii haplotypové diverzity raka říčního ve střední a jihovýchodní Evropě bylo nalezeno rozdělení haplotypů do skupin odpovídajících úmořím Černého, Baltského a Severního moře a rozdělení do hlavních povodí v rámci těchto úmoří (Schrimpf a kol. 2011 v tisku). Na základě největšího počtu endemických haplotypů a nejvyšší haplotypové diverzity v černomořské oblasti bylo navržen scénář znovuosídlení Evropy po posledním zalednění, podle kterého se z Balkánu šířily dvě linie. Jedna z nich kolonizovala střední Evropu povodím Dunaje a druhá mohla vést na sever do povodí Baltského a Severního moře (Schrimpf a kol. 2011 v tisku). Časté přenášení a vysazování raka říčního lidmi (citace) se odráží v nespojitém výskytu některých haplotypů v nesousedících povodích (Schrimpf a kol. 2011 v tisku). Schrimpf a kol. (2011 v tisku) diskutují i možný původ endemických haplotypů povodí Baltského a Černého moře vysazením z jiné části Evropy mimo studovanou oblast (například evropská část Ruska).

Genetická variabilita raka říčního byla studována na populacích ve Skandinávii. Dvě studie genetické variability druhé inzercí v ITS1 (internal transcribed spacer 1) regionu jaderného ribosomálního genu skandinávských populací odhalily velké odlišnosti mezi jednotlivými populacemi bez geografického rozložení této variability, což je vysvětleno častým přenášením a vysazováním raků i opakovaně ve stejné oblasti (Edsman a kol. 2002, Alaranta a kol. 2006). Rozložení genetické variability odpovídalo v některých případech známé historii vysazování raků. Malým počtem inzercí se od ostatních lišily jedinci z lokalit, kde není známo, že by byli raci vysazováni lidmi (Alaranta a kol. 2006).

Starší pokusy o zjišťování genetické variability raka říčního pomocí variability alozymů ve Skandinávii nebyly příliš úspěšné. Dvě studie zaznamenaly jen minimální alozymovou variabilitu mezi populacemi raka říčního ve Skandinávii (Agerberg 1990 a Fevolden a kol. 1994). Mezi populacemi raka říčního ze Švédska a Polska nebyla nalezena žádná smysluplně geograficky vysvětlitelná variabilita alozymů (Agerberg 1990). Stejně tak mezi osmi populacemi raka říčního z jezer jižního Norska byla nalezena jen minimální variabilita, která sloučila dohromady populace se společným původem. Většina norských populací byla introdukována ze Švédska, čemuž odpovídá i podobná genetická struktura těchto introdukovaných populací. Pouze u několika málo norských populací u hranic se Švédskem se předpokládá možný přirozený původ (Fevolden a kol. 1994).

Další publikovaná studie o genetické variabilitě raka říčního se zabývá oblastí střední Evropy (Schulz a kol. 2004). U třech německých a pěti polských populací raka říčního byla studována mezipopulační i vnitropopulační genetická variabilita multilokusovou analýzou jaderných markerů metodou ISSR-PCR (Inter-Simple Sequence Repeats-Polymerase Chain Reaction) (Schulz a kol. 2004). Tyto u raka říčního nově použité markery umožnily odlišení většiny populací a jejich rozdělení do dvou hlavních linií odpovídajících skupinám populací ze západu a východu studované oblasti, s náznaky členění do podskupin. Na každou populaci připadly čtyři až devatenáct polymorfních lokusů. Autorům se podařilo dát vnitropopulační genetickou variabilitu do souvislosti s velikostí populací a v některých případech i s jejich známým antropogenním původem (Schulz a kol. 2004).

## 4.1 Shrnutí fylogeografie raka říčního *Astacus astacus*

Současné znalosti o haplotypové diverzitě raka říčního ve střední a jihovýchodní Evropě umožňují vymezit mitochondriální linie odpovídající hlavním povodím a nastínit scénář přirozené kolonizace Evropy po konci poslední doby ledové z Balkánu (Schrimpf a kol. v tisku) i přes silný vliv lidí na rozšíření raků (Holdich a kol. 2002). Tyto výsledky by se měly v budoucnu podle Schrimpf a kol. (v tisku) rozšířit o studie v oblasti východní Evropy a severozápadu Balkánu.

U studií věnujících se skandinávským populacím se nepodařilo najít smysluplné geografické rozložení genetické variability, pravděpodobně v důsledku mnohonásobných umělých vysazování a přenášení raků v této oblasti (Edsman a kol. 2002 a Alaranta a kol. 2006). O poznání lepší výsledky mělo studium genetické variability v Německu, kde rozložení genetické variability odpovídá geografickému rozmístění populací (Schulz a kol. 2004).

Potenciál pro budoucí studium populační genetiky slibují mikrosatelitové markery, které již byly pro tento druh vytvořeny a otestovány (Kõiv a kol. 2008), ale zatím nejsou publikovány práce, které by je k porovnávání vnitropopulační a mezipopulační genetické variability využily.

## 5 Různonožci rodu *Gammarus*

Čeleď Gammaridae tvoří důležitou skupinu různonohých bentických korýšů, z nichž nejlépe je v Evropě prostudován rod *Gammarus*. Jde o velký rod, který má v západním palearktu okolo 100 druhů (Hou a kol. 2007). Sladkovodní druhy blešivců jsou nejběžnější v chladné tekoucí vodě a chladných jezerech (Väinölä a kol. 2008). Členění rodu *Gammarus* podle molekulární fylogenetické studie řadí evropské druhy do parafyletické skupiny společně s druhy severní Ameriky (Hou a kol. 2007), což je v rozporu se starším členěním podle morfologických znaků, ve kterém byl rod *Gammarus* rozdělen do tří druhových skupin (Karaman a Pinkster 1987).

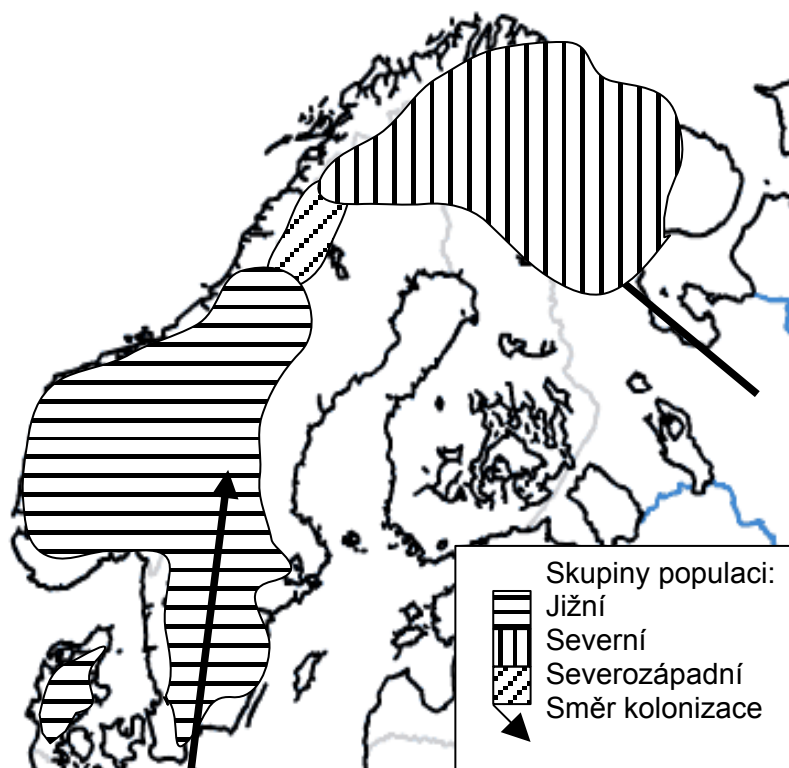
Z velkého počtu druhů rodu *Gammarus* se v následujících podkapitolách věnuji jen těm, ke kterým byly publikovány údaje o geografickém rozložení genetické variability a fylogeografii. Jsou to druhy blešivce jezerní *G. lacustris* (G. O. Sars, 1863), blešivec potoční *G. fossarum* a *G. duebeni*.

### 5.1 Fylogeografie blešivce jezerního *Gammarus lacustris*

*Gammarus lacustris* je nejrozšířenějším druhem sladkovodních různonožců. Má téměř cirkumboreální rozšíření, navíc se vyskytuje i v jižní Evropě a střední Asii. Nejznámější je z chladných jezer. *G. lacustris* dokázal rychle kolonizovat rozsáhlé oblasti severu Palearktu po konci poslední doby ledové díky dobrým kolonizačním vlastnostem (Väinölä a kol. 2008). *G. lacustris* se dokáže na krátké vzdálenosti šířit i pomocí vodního ptactva (Segerstrale 1957 podle Vainio a Väinölä 2003).

Současná geografická distribuce blešivce jezerního a jeho genealogických linií ve Skandinávii a oblasti Alp se začala utvářet až po konci poslední doby ledové, kdy se tento druh šířil do nově vzniklých jezer v těchto oblastech. V obou těchto oblastech se ukázalo, že rozdělení studovaných populací do linií podle variability úseku mitochondriálního genu pro cytochrom oxidázu I (Meyran a Taberlet 1998) a polymorfismu alozymů (Vainio a Väinölä 2003) odpovídá s největší pravděpodobností kolonizačním cestám. Skandinávie byla kolonizována nezávisle na sobě ze dvou směrů - evropskou linií, jejíž kolonizace postupovala na sever přes pevninský most z Dánska,

a z východu sibiřskými populacemi, které přišly přes Karélii. Obě linie byly oddělené už před poslední dobou ledovou. Navíc se ve Skandinávii vyskytuje i třetí linie, příbuznější evropské. Její populace se vyskytují na severozápadě Norska (Vainio a Väinölä 2003) v oblasti, která pravděpodobně nebyla během poslední doby ledové zaledněna. V jezeře v této oblasti byl zaznamenáno kontinuální přibývání sedimentů ve většině pozdní části posledního skandinávského zalednění (Alm 1993), což znamená, že severozápad Norska mohl být refugiem pro odolné jezerní druhy. Rozdělení skandinávských populací a směry postglaciální rekolonizace jsou ukázány na obrázku 6. Podobně horská jezera ve francouzských Alpách byla kolonizována dvěma hlavními liniemi ze severu a z jihu (Meyran a Taberlet 1998). V obou případech je dnešní rozšíření *G. lacustris* v jezerech nesouvislé, u skandinávských populací je to vysvětleno schopností *G. lacustris* šířit se pasivně pomocí vodních ptáků (Vainio a Väinölä 2003).



Mapa 5: Výskyt tří skupin populací blešivce *Gammarus lacustris* ve Skandinávii a hlavní směry, kterými blešivec jezerní kolonizoval Skandinávii po konci poslední doby ledové. V oblasti severozápadní skupiny je předpokládán pobřežní glaciální refugium. Mapa vytvořena podle Vainio a Väinölä (2003).

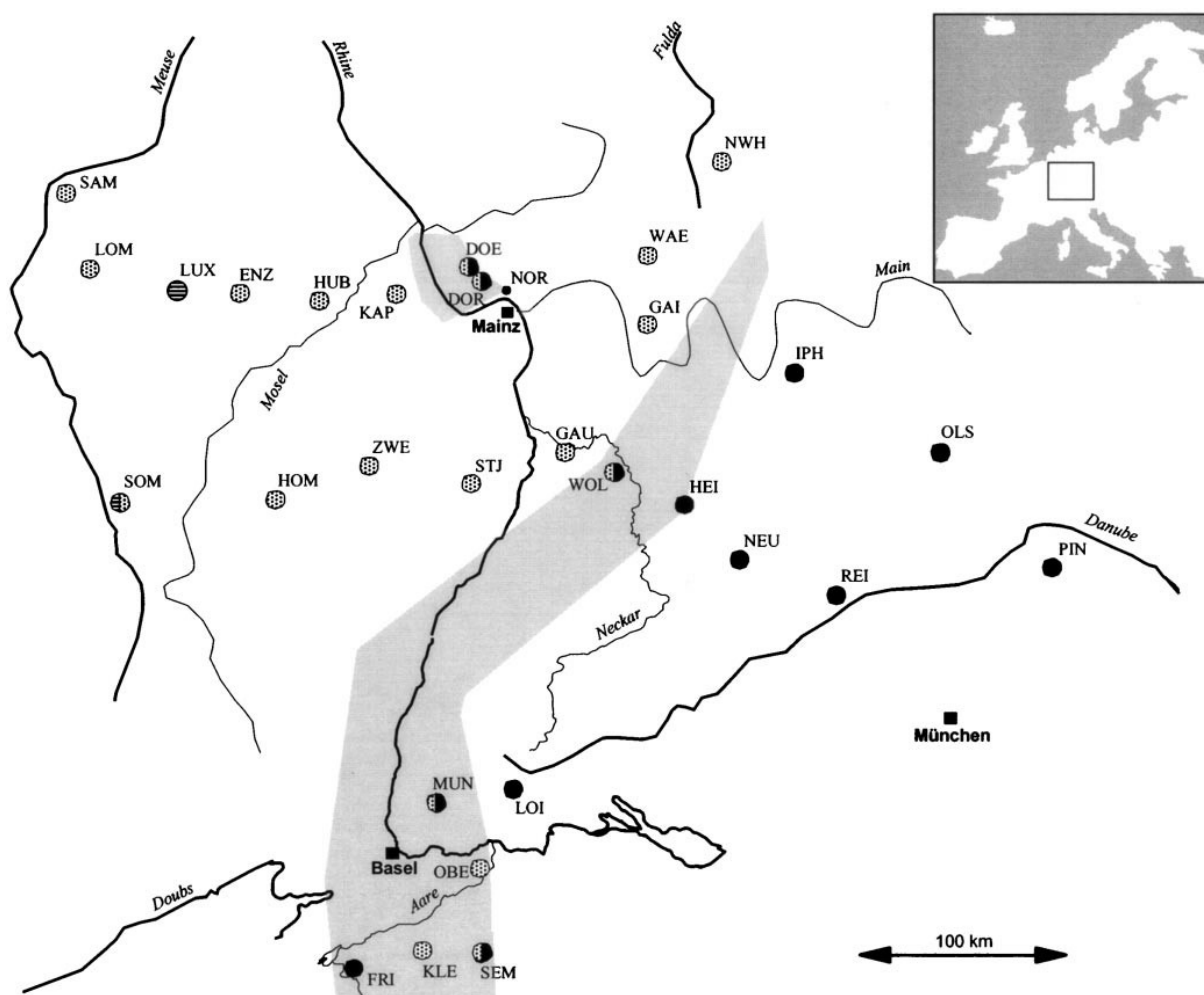
## 5.2 Fylogeografie komplexu blešivce potočního *Gammarus fossarum*

Blešivec potoční *Gammarus fossarum* je druhový komplex více kryptických druhů (Müller 1998, 2000). Populace komplexu blešivce potočního se vyskytují v horních úsecích menších toků, zatímco dolní úseky větších řek jsou pro ně neobyvatelné (Siegismund a Müller 1991). To je důvodem velké mezipopulační genetické diferenciaci, která byla u tohoto komplexu zjištěna (Meyran a kol. 1998, Müller 1998, 2000, Siegismund a Müller 1991).

Ve střední Evropě, východně od údolí Rýna, se nalézá zóna sekundárního kontaktu tří mitochondriálních linií *G. fossarum*. Dvě linie západní se zde setkávají s linií východní v důsledku



šíření z odlišných glaciálních refugií západně a východně od Alp (Müller 2000). Linií východní lze jednoznačně odlišit i pomocí jaderných markerů (alozymů) (Müller 1998). Sekundární zóna kontaktu mezi liniemi je ukázána na obrázku 7. Všechny tři linie liší se na úrovni druhů vznikly pravděpodobně krátce po sobě již v období miocénu. Nepodařilo se určit která z linií vznikla první. V průběhu pleistocénu se pak utvářela genetická variabilita uvnitř těchto linií (Müller 2000).



Mapa 6: Oblast sekundárního kontaktu dvou západních a jedné východní linie blešivce potočního ve střední Evropě lokalizované převážně na východ od migrační bariéry údolí Rýnu. Různá výplň bodů označujících populace zahrnuté ve studii odpovídá jednotlivým skupinám populací (černá: východní linie, tečky: západní linie, vodorovné pruhy: druhá západní linie), a symboly půlené představují smíšené populace. Mapa převzata z Müller a kol. (2000).

Genetická variabilita mezi populacemi západních linií *G. fossarum* byla studována v oblasti francouzských Alp pomocí mtDNA COI genu. Mezi populacemi francouzských Alp bylo nalezeno 20 haplotypů *G. fossarum* podle mtDNA COI genu, které byly uspořádány v pěti liniích. Nepodařilo se najít smyslupnou geografickou strukturu výskytu těchto linií. Současné rozšíření haplotypů *G. fossarum* ve francouzských Alpách je ovlivněno jak historickými, tak environmentálními faktory. Linie šířící se po poslední době ledové z předpokládaného refugia nebo refugií ve střední a severní Francii (možná refugia západních linií *G. fossarum*) si mohly uchovat vyšší haplotypovou diverzitu jen

na lokalitách v povodích s vápencových podloží, které umožnily dlouhodobé přežívání velkých populací (Meyran a kol. 1998b).

Populační genetická struktura *G. fossarum* v jižním Německu byla studována pomocí variability několika alozymových lokusů (Siegismund a Müller 1991). Na základě těchto markerů se populace rozdělily do skupin přibližně odpovídajících jednotlivým částem říční sítě přítoků Dunaje navzájem oddělených většími toky. Do studie byly zahrnuty i čtyři populace z povodí Rýna nalézající se v blízkosti hranice povodí Dunaje a Rýna. Genetická vzdálenost těchto populací nebyla větší než mezi skupinami populací v rámci povodí Dunaje, což je vysvětleno změnami lokální hydrogeografie v minulosti (v této části studované oblasti došlo v minulosti k posunu pramenů horních toků některých přítoků Rýnu, které se i dnes nachází velmi blízko pramenům přítoků Dunaje). Jinak distribuce genetické variability *G. fossarum* v Německu vcelku odpovídá struktuře říční sítě (Siegismund a Müller 1991).

### 5.3 Fylogeografie *Gammarus duebeni*

*Gammarus duebeni* se vyskytuje v horní litorální zóně přílivového pásu pobřeží severního Atlantiku a v několika sladkovodních lokalitách (Krebes a kol. 2010) a je považován za jeden z modelových druhů pro studium rekolonizace severního Atlantiku po konci poslední doby ledové (Rock a kol. 2007). Schopnost snášet různou salinitu umožnila *G. duebeni* kolonizovat i pevninské vody (Krebes a kol. 2010), což je důvodem proč se tímto blešivcem zabývám. Sladkovodní populace *G. duebeni* byly na základě morfologických znaků řazeny do poddruhu *G. duebeni. celticus* (Stock a Pinkster 1970 podle Krebs a kol. 2010). Studie zkoumající mitochondriální variabilitu mořských populací z pobřeží severní a střední Evropy a populací sladkovodních z Irska, Bretaňského poloostrova a Cornwallu rozdělila tyto populace do pěti linií (Krebes a kol. 2010). Jednu z těchto linií, která je považována za původní, tvořily jen mořské populace. Od této linie se nejvíce odlišovala sladkovodní linie Irská. Sladkovodní linie z Cornwallu a dvě linie z Bretaně jsou mořské linii příbuznější a jedna z bretaňských linií zahrnuje populace mořské i sladkovodní (Krebes a kol. 2010). Vztahy linií *G. duebeni* vedly k předpokladu několika nezávislých kolonizací pevninských vod mořskými populacemi v důsledku klesající hladiny moří při pleistocénních zaledněních (Krebes a kol. 2010). Jedinou výjimkou je linie irská, u které se předpokládá původ starší než pleistocénní (Rock a kol. 2007, Krebs a kol. 2010). Poddruhové jméno *G. duebeni celticus* by se podle Krebs a kol. (2010) mělo vztahovat pouze na irskou linii, která se od ostatních nejvíce odlišuje.

### 5.4 Shrnutí fylogeografie rodu *Gammarus*

Studie historických procesů ovlivňujících současné geografické rozložení genealogických linií *G. lacustris* v Evropě se zabývá jen historickým obdobím po konci posledního glaciálu. U skandinávských i alpských populací se autorům podařilo popsat pravděpodobný scénář kolonizace nově vznikajících jezer po konci posledního glaciálu v souladu s historickými událostmi, jako například postupné tání ledovců v Alpách, které propojilo dnes izolovaná povodí. Tento sled historických událostí určil migrační cesty, využitelné populacemi *G. lacustris* a tudíž i výrazně ovlivnil současné geografické rozložení genealogických linií blešivce jezerního (Meyran a Taberlet 1998 a Vainio a Väinölä 2003). Pro

skandinávské populace blešivce jezerního se předpokládají 3 glaciální refugia, jedno jižní v Evropě, další východní pravděpodobně v oblasti Sibíře a nakonec třetí refugium na severozápadě Norska (Vainio a Väinölä 2003). U alpských populací blešivce jezerního se předpokládá, že období glaciálů strávil tento druh v refugiu v nezaledněné části Francie (Meyran a Taberlet 1998). Může jít o stejnou oblast, kde se nacházelo refugium skandinávské evropské linie. Rozložení genealogických linií *G. lacustris* ve Linie sekundárního kontaktu blešivce jezerního ve Skandinávii (Vainio a Väinölä 2003) souhlasí s jednou z hlavních evropských hybridizačních zón (Taberlet a kol. 1998).

Studie fylogeografie komplexu blešivce potočního *G. fossarum* ve střední Evropě našla tři linie třetihorního původu lišící se na úrovni druhu, které jsou logicky rozložené okolo významné migrační bariéry, řeky Rýnu, v důsledku postglaciální rekolonizace Evropy minimálně ze dvou odlišných glaciálních refugií (Müller 2000). Rozložení linií *G. fossarum* ve střední Evropě (Müller 2000) odpovídá jedné z hlavních evropských hybridizačních zón (Taberlet a kol. 1998).

U druhu *G. duebeni* se předpokládá, že většina evropských sladkovodních populací jsou glaciální relikty a že tento druh kolonizoval sladké vody několikrát v průběhu Pleistocénu a v případě irské sladkovodní linie možná už v Pliocénu (Rock a kol. 2007, Krebs a kol. 2010).

## 6 Fylogeografie bentických korýšů Pontokaspické oblasti

Pontokaspická oblast má velký počet endemických korýších druhů, rozkládá se v oblasti bývalého vnitrokontinentálního moře Parathetys. Odpovídá regionům Kaspického, Černého, Azovského a Aralského moře a jejich povodím (Cristescu a kol. 2003). Velký počet druhů korýšů v této oblasti je vysvětlován historickými podmínkami jako je proměnlivá salinita a různý stupeň fragmentace povodí (Rögl 1998). Společným rysem fylogeografie pontokaspických korýšů je oddělení linií z oblasti Kaspického a Černého moře (Cristescu a kol. 2003), což souvisí s tím, že Kaspické a Černé moře byla oddělena už od začátku Pliocénu. V průběhu Pliocénu a ve třech pleistocénních interglaciálech byla tato moře krátkodobě propojené, což umožnilo víc kolonizací v obou směrech. Tomu odpovídá i datování vnitrodruhového rozdělení linií u různých druhů mezi oběma hlavními regiony od konce Pliocénu po začátek Pleistocénu (Cristescu a kol. 2003). Takové rozdělení bylo pozorováno například u třech druhů rodu *Pontogammarus* (Cristescu a kol. 2003) a u druhu *Echinogammarus ischnus* (Cristescu a kol. 2004). U populací druhu *Echinogammarus ischnus* bylo podle variability mitochondriálního COI genu navíc zjištěno rozdělení čenomořských populací do čtyř linií. Dvě z těchto linií se vyskytují v pobřežních vodách Černého moře a dvě byly sladkovodní s charakteristickým výskytem v řekách Dněstr a Dněpr (Cristescu a kol. 2003).

Budování říčních kanálů umožnilo přizpůsobivým pontokaspickým druhům zahájit biologické invaze na sever a západ do Evropy (z bentických korýšů jde hlavně o různonožce) (Bij de Vaate a kol. 2002). Existují tři hlavní kolonizační cesty z Ponto-kaspické oblasti. Těmi jsou jižní cesta (řeky Dunaj, Rýn), cesta střední (řeky Dněpr, Vistula, Odra, Labe a Rýn) a cesta severní (Volha, Bílé jezero, Onežské jezero, Ladožské jezero, Něva a Baltské moře) (Bij de Vaate a kol. 2002). Jižní cestou kolonizovaly střední Evropu například dva druhy rodu *Dikerogammarus* (*D. villosus* a *D. haemobaphes*) (Müller a kol. 2002). *D. haemobaphes* kolonizoval střední Evropu i cestou střední (Müller a kol. 2002). *Echinogammarus ischnus* postupoval cestou severní, nicméně ne Volhou z Kaspického moře, ale Dněprem z moře Černého do pobřežních vod Baltského moře a odsud dál s pomocí lodní dopravy do

dolního toku Rýna (Cristescu a kol. 2004). U všech těchto tří druhů byla v nově osídlených částech areálu pozorována silně snížená genetická variabilita (Müller a kol. 2002, Cristescu a kol. 2004), což je v souladu s pozorováním snížené genetické diverzity u invazních druhů v porovnání s druhy původními a zdrojovými populacemi (Davies a kol. 1999).

## 7 Fylogeografie komplexu berušky vodní *Asellus aquaticus*

Beruška vodní *Asellus aquaticus* se hojně vyskytuje v evropských kontinentálních vodách. Je typickým evropským zástupcem sladkovodních stejnonožců Isopoda. Areál berušky vodní zahrnuje všechna hlavní středoevropská a středomořská povodí s výjimkou Iberského poloostrova. Většina oblastí je osídlena morfologicky uniformními jedinci poddruhu *A. aquaticus aquaticus*. Vyskytuje se ve velkém množství sladkovodních habitatů s výjimkou oligotrofních vod. Největší populace se vyskytují ve velkých řekách (Verovnik a kol. 2005). Beruška vodní přežívá i v brakických vodách a v porovnání s rodem *Gammarus* snáší relativně velké organické znečištění (MacNeil a kol. 2002). Lze tedy říci, že areál berušky vodní nebyl nijak výrazně ovlivněn lidmi způsobeným znečištěním. Berušky nebyly lidmi ani úmyslně přenášeny (Verovnik a kol. 2005). Beruška vodní je díky svému souvislému výskytu a malé pravděpodobnosti ovlivnění lidmi vhodným druhem pro studii přirozené fylogeografie ve velkém měřítku (Verovnik a kol. 2005).

Při studiu genetické variability berušky vodní byly mezi 346 jedinci z celé Evropy na západ od Balkánu nalezeny jen tři odlišné sekvence jaderného 28S rDNA genu. Jednu z těchto sekvencí sdílí většina evropských populací, což je podle autorů studie pravděpodobně důsledek synchronní evoluce udržované díky občasným disperzím berušky vodní přes hranice povodí (Verovnik a kol. 2005). Další dvě linie jsou vzácné a zahrnují populace z izolovaných povodí severozápadu Dinárského krasu a populaci z izolované jeskyně Trebiciano na severovýchodním okraji Dinárského krasu (Verovnik a kol. 2005).

Na základě variability mitochondriálního genu pro COI bylo nalezeno mezi evropskými populacemi berušky vodní 194 haplotypů, které byly rozděleny do 6 skupin s charakteristickým geografickým výskytem, který je ukázán na obrázku 8. Tyto linie se liší na úrovni druhů až rodů. Pomocí vztahů mezi těmito skupinami byla rekonstruována pravděpodobná historie kolonizace Evropy beruškou sladkovodní počínaje třetihorami (Verovnik a kol. 2005).

Jedna populace z řeky Dráva v západní Panonii obsahovala mitochondriální haplotypy COI genu, které jsou podle fylogenetických analýz u báze téměř všech ostatních skupin nebo jsou jejich součástí. Toto zjištění vedlo k předpokladu, že jedinci z této populace jsou pravděpodobně potomky nejstarších evropských populací, které mohly zhruba v této oblasti osídlit evropské vnitrozemské vody z moře Paratethys (Verovnik a kol. 2005). Vnitrokontinentální moře Paratethys bylo v miocénu propojeno s Indickým oceánem, ale jeho jednotlivé části byly střídavě uzavřené, s čímž souviselo i lokální snížení salinity (Rögl 1998), takže mohlo sloužit jako migrační trasa pro sladkovodní druhy snášející brakickou vodu. Předci evropských populací berušky vodní pravděpodobně překonali moře Paratethys při šíření na západ z východní Asie (Verovnik a kol. 2005) Příkladem dalšího sladkovodního druhu, který kolonizoval Evropu z moře Paratethys je vranka obecná *Cottus gobio* (Englbrecht a kol. 2000).

Příchod berušky vodní do západní Panonie by měl odpovídat oddělení ukrajinské linie komplexu berušky vodní *Asellus* sp. od všech ostatních evropských linií, přibližně datovanému na základě

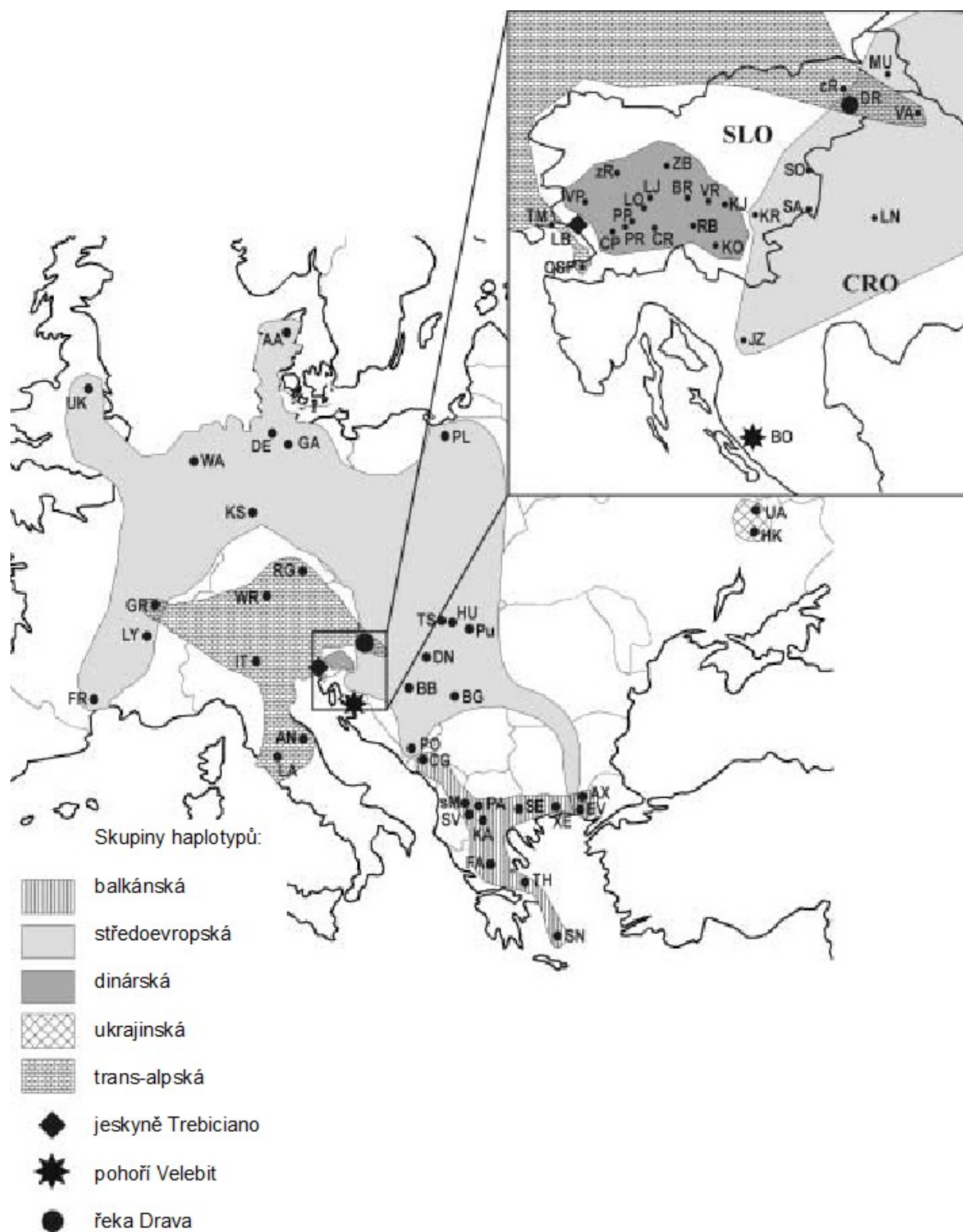
molekulárních hodin převzatých od rodu *Stenasellus* (Ketmaier a kol. 2003) do období před 8 miliony let v Miocénu (Verovnik a kol. 2005). Ze západní Panonie se beruška sladkovodní šířila čtyřmi migračními cestami pravděpodobně už v období třetihor. Není známo, kam až tato první kolonizace Evropy dospěla, ale předpokládá se, že umožnila již před začátkem pleistocénu vznik druhotných center šíření a glaciálních refugií. Směrem jihovýchodním na Balkán postupovala balkánská skupina haplotypů, směrem jihozápadním do Itálie skupina trans-alpská, která se rozšířila v Itálii a navíc překročila Alpy směrem na sever a na západ Francie. Skupina středoevropských haplotypů postupovala na severovýchod (Verovnik a kol. 2005). Poslední tři skupiny haplotypů se nachází v oblasti Dinárského krasu. Přežívání berušky vodní v dlouhodobě hydrologicky izolovaných povodích severozápadu Dinárského krasu, kde je předpokládáno jedno z glaciálních refugií, vysvětluje unikátnost dinárských haplotypů. Autoři předpokládají další samostatné refugium i pro bohatou skupinu nizozemských haplotypů (Verovnik a kol. 2005). Belgické Ardeny jsou jedním z míst, kde se předpokládá jedno ze severních glaciálních refugií temperátní bioty (Stewart a Lister 2001).

U jedné ze tří izolovaných linií Dinárského krasu byla zkoumána mitochondriální variabilita mezi povrchovými a morfologicky odlišnými podzemními populacemi, které byly dříve na základě svých morfologických znaků určeny jako samostatný poddruh *A. aquaticus cavernicolus*. Ukázalo se, že rozložení genetické variability odpovídá příslušnosti k povodí a nikoli rozdělení na povrchové a podzemní populace. Morfologické znaky vymezující původně popsany dinárský poddruh jsou tedy důsledkem konvergentní evoluce adaptací pro život v jeskyních, která následovala po třech nezávislých invazích do jeskynních systémů Dinárského krasu (Verovnik a kol. 2003 a 2004). Scénář vícenásobných invazí do jeskyní v oblasti Dinárského krasu popsany u berušky vodní není ojedinělý, byl navržen například i pro macaráta *Proteus* (Sket 1997).

## 7.1 Shrnutí fylogeografie berušky vodní *Asellus aquaticus*

V případě berušky vodní je známo rozložení hlavních skupin mitochondriálních haplotypů v kontinentálním měřítku (bez nejvýchodnějších částí Evropy) s pravděpodobným umístěním centra šíření ve střední Evropě v západní Panonii a netradičními sekundárními refugii v belgických Ardenách a Dinárském krasu (Verovnik a kol. 2005), což je neobvyklá fylogeografie, která neodpovídá tradičním představám šíření z jižních refugií (Taberlet a kol. 1998). Verovnik a kol. (2005) předkládají historický scénář kolonizace Evropy beruškou počínaje obdobím miocénu a vliv postupu této kolonizace skrze propojené vodní habitaty na její současnou fylogeografii (Verovnik a kol. 2005). Na lokálním měřítku byla věnována větší pozornost několika skupinám vzácných haplotypů v Dinárském krasu, kde podobný kolektiv autorů zjistil pomocí dvou různých molekulárních markerů bližší příbuznost mezi skupinami populací ze stejného povodí bez ohledu na jejich příslušnost k morfologicky odlišným jeskynním nebo povrchovým populacím, což vyvrací starší členění na poddruhy (Verovnik a kol. 2003, Verovnik a kol. 2004).

Z hlediska dotvoření celkového obrazu o fylogeografii berušky sladkovodní by bylo dobré v budoucnu podniknout více lokálních studií v jiných částech Evropy než jen v Dinárském krasu vzhledem k tomu, že jde o druh umožňující studii rozložení genealogických linií, které bylo jen s velmi malou pravděpodobností ovlivněno lidmi (Verovnik a kol. 2005).



Obrázek 8: Areály skupin mitochondriálních haplotypů berušky vodní *Asellus aquaticus*. Oblast řeky Drava na západě Panonie (v Maďarsku) je považována za primární centrum šíření berušky vodní. Populace z jeskyně Trebiciano a pohoří Velebit patří ke skupinám vzácných dinárských haplotypů berušky vodní. Mapa upravena podle Trontelj a kol. (2005).

## 8 Genetická variabilita *Proasellus coxalis*

*Proasellus coxalis* je sladkovodní zástupce stejnonožců Isopoda široce rozšířený v mezotrofních pomalu tekoucích vodách Středomořské oblasti (Ketmaier a kol. 2001). V rámci tohoto druhu bylo na základě morfologických znaků odlišeno až 24 poddruhů (Stoch 1989 podle Ketmaier a kol. 2001), výrazné vnitřní rozdělení, ale ne stejné taxonomické členění, bylo potvrzeno i pomocí studia genetické variability jaderných genů (Ketmaier a kol. 2001, Ketmaier 2002). Na základě genetické vzdálenosti srovnávací populace z Jordánska a populací ze Sardinie a střední Itálie je u druhu *P. coxalis* předpokládána třetihorní kolonizace jižní Evropy (Ketmaier a kol. 2001).

Mezipopulační genetická struktura byla detailněji studována na Sardinii (Ketmaier a kol. 2001) a ve střední Itálii (Ketmaier 2002). Sardinské populace byly rozděleny do tří skupin odpovídajících propojenosti povodí a to včetně tří populací podzemních (Ketmaier a kol. 2001) obdobně jako u berušky vodní v dinárském krasu (Verovnik a kol. 2003, Verovnik a kol. 2004). Ve střední Itálii byly nalezeny dvě hlavní linie odpovídající vnitrozemským apeninským populacím a skupině pobřežních populací z obou stran Itálie. Genetická struktura odpovídá víceméně geografické vzdálenosti populací, což je výraznější u pobřežní linie. Pobřežní linie je mladší a odvozená z linie vnitrozemské. V období Pliopleistocénu (před 3,3 až 0,3 miliony let) byly pobřežní aluviální pláně střední itálie pod hladinou moře (Ambrosetti a kol. 1979 podle Ketmaier 2002) a tudíž pro *P. coxalis* a jiné sladkovodní druhy neobyvatelné. Fragmentace povodí v Apeninách v průběhu zalednění jsou pravděpodobně zodpovědné za méně jasnou genetickou strukturu u místních populací (Ketmaier 2002).

## 9 Genetická variabilita kraba říčního *Potamon fluviatile*

Krab říční *Potamon fluviatile* (Herbst, 1785) z čeledi sladkovodních krabů Potamidae má nesouvislé rozšíření v Itálii, Sicílii, Maltě, jižní Dalmácii a několika západních ostrovech egejského moře (Jesse a kol. 2009). Tento druh sladkovodního kraba je čistě sladkovodní a nedokáže překonat moře ani nemá volné stadium planktonní larvy (Jesse a kol. 2009). Proto bylo pomocí genetické variability dvou mitochondriálních genů zkoumáno zda je jeho dnešní rozšíření přirozené nebo způsobené lidmi, jak bylo navrženo ve starší studii (Brandis 1997 podle Jesse a kol. 2009). Druhá možnost připadá v úvahu vzhledem k tomu, že jde o druh jedlý (Jesse a kol. 2009). Populace z Itálie, Sicílie a Malty vytvořili společnou skupinu s nižší genetickou variabilitou než byla zjištěna u skupiny populací Balkánských (Jesse a kol. 2009). Jesse a kol. (2009) předpokládají, že osídlení Itálie, Sicílie a řeckých ostrovů lze vysvětlit přirozeným šířením tohoto druhu v Pleistocénu díky snížené hladině moří. Nejpravděpodobnější se jeví hypotéza migrace ze severního Balkánu do jižní Itálie a následně do dalších částí dnešního areálu. Rozdělení italských a balkánských populací je datováno do období před 15 tisíci lety (Jesse a kol. 2009), což podporuje předpoklad přirozeného šíření, kdy hladina Středozemního moře v průběhu zalednění výrazně klesla (Flemming a kol. 1998). Zdá se, že jediné jednoznačně lidmi vysazené populace *Potamon fluviatile* jsou na Maltě (Jesse a kol. 2009).

## 10 Závěr

Fylogeografie evropských sladkovodních bentických koryšů při celkovém pohledu vykazuje určité společné rysy. Tyto podobnosti jsou důsledkem čtvrtohorních klimatických oscilací, které silně ovlivnily rozložení hlavních genealogických linií v rámci poddruhů. Čtvrtohorní cykly zalednění ztížily hledání příčin původního rozdělení linií vyšší úrovně, které je často datováno do období předcházející poslední dobu ledovou. Nejčastěji navrhovanou příčinou oddělení třetihorních linií je alopatrická speciace v oddělených povodích.

Rozložení genealogických linií v severní části Evropy bylo určeno převážně dostupností propojených vodních cest umožňujících znovuosídlení Evropy po posledním zalednění z refugií, z nichž většina se nachází na jihu Evropy na poloostrovech nebo v jižních pohořích, ale jak u berušky vodní tak i u blešivce jezerního je předpokládáno severní refugium. Zvláštním případem jsou glaciální reliktní populace převážně mořského druhu *G. duebeni* ve sladkých vodách. Z výskytu jednotlivých linií lze odvodit, že linie, které přečkali glaciace ve stejných nebo blízkých refugiích kolonizovaly Evropu podobnými migračními trasami, ale s různým úspěchem odpovídajícím jejich specifickým disperzním schopnostem a ekologickým nárokům.

U raků a kraba říčního je třeba zdůraznit vliv přenášení a vysazování lidmi na jejich současnou fylogeografii. V některých případech vysvětluje přenášení lidmi výskyt genealogických linií oprávněně (např. populace atlantské linie raka bělonohého v Irsku jsou zcela zjevně introdukované, několik populací *A. italicus* na severní straně Alp je rovněž nepůvodních a populace kraba říčního na Maltě jsou také nepůvodní). V jiných případech se ovšem zdá, že přílišné vyzdvižení vlivu přenášení raků lidmi může vést k mylným fylogeografickým závěrům (Starší mylný předpoklad o umělém původu španělských linií raka bělonohého přenesením z Itálie lidmi nebo předpoklad, že rak kamenáč je nepůvodním druhem v povodí Labe, který byl také vyvrácen).

Zjištěné podobnosti ve fylogeografii koryšů, kterými jsem se zabýval, jsou lokalizace hlavních center diverzity a glaciálních refugií. Alespoň některé druhové linie potvrzují běžně přijímanou hypotézu o poloze hlavních hybridizačních zón v Evropě a sdílí společné migrační cesty.

Současný stav znalostí o fylogeografii bentických koryšů také podává zprávy o mnoha odchylkách od jednoduchých obecných fylogeografických scénářů. Jde například o pozici hlavního centra šíření berušky vodní na západě Panonské oblasti (tj. v Maďarsku) a kolonizační cesty, kterými z tohoto centra šíření obsadila Evropu. Pozice tohoto refugia je logická s ohledem na popsany scénář kolonizace Evropy beruškou, který vychází z analýz vzorků z celého evropského areálu berušky sladkovodní.

U více druhů je popsání rozložení linií vysvětleno historickými změnami v propojení povodí (lokální tektonika, která dočasně pozměnila propojení povodí v Apeninách) nebo fluktuacemi mořské hladiny v průběhu poslední doby ledové (jež vedly k dočasnému propojení slovinských a italských přítoků Jadranu a spojení povodí Británie a Francie). Výrazný vliv historické izolace povodí je zřejmý v Dinárské oblasti.

Z posouzení dostupných zdrojů o fylogeografii evropských sladkovodních koryšů vyplývá, že největší množství autorů se věnuje fylogeografii ochráněnsky atraktivního druhového komplexu *Austropotamobius pallipes*, za kterým znalosti o ostatních taxonech značně zaostávají. U dalších



korýšů lze říci, že je přednostně věnována pozornost zajímavé problematice, jako je fylogeografie populací izolovaných v horních tocích nebo studium fylogeografie jeskynních druhů z Dinárského krasu a problematice kulturně-komerční, kterou míním studium genetické variability populací raka říčního ve Skandinávii.

## 11 Seznam citované literatury:

- Agerberg A.** (1990). Genetic variation in the three species of freshwater crayfish, *Astacus astacus* L., *Astacus leptodactylus* Aesch., and *Pacifastacus leniusculus* (Dana), revealed by isozyme electrophoresis. *Hereditas* 113: 101-108 (1990).
- Alaranta A., Henttonen P., Jussila J., Kokko H., Prestegard T., Edsman L. a Halmekyto M.** (2006). Genetic differences among noble crayfish (*Astacus astacus*) stocks in Finland, Sweden and Estonia based on the ITS1 region. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 380- 381: 965-976.
- Alm T.** (1993). Øvre Årsvatn-palynostratigraphy of 22,000 to 10,000 BP lacustrine record on Andøya, norther Norway. *Boreas* 22: 171-188.
- Alves P. C., Melo-Ferreira J., Branco M., Suchentrunk F., Ferrand N. a Harris D. J.** (2008). Evidence for genetic similarity of two allopatric European hares (*Lepus corsicanus* and *L. castroviejo*) inferred from nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 46: 1191-1197.
- Avise J. C.** (2000). Phylogeography. *Harvard University Press*, Cambridge, Massachusetts.
- Baric S., Höllrigl A., Kerschbamer C., Füreder L., Petutschnig J. a Dalla Via J.** (2005a). Update of the molecular phylogeny of the *Austropotamobius pallipes* species complex by including specimens from south Tyrol (Italy) and Carinthia (Austria). *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 376-377: 627-636.
- Baric S., Höllrigl A., Füreder L. a Dalla Via J.** (2005b). Mitochondrial and microsatellite DNA analyses of *Austropotamobius pallipes* populations in South Tyrol (Italy) and Tyrol (Austria). *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 376-377: 599-612.
- Baric S., Höllrigl A., Füreder L., Petutschnig J. a Dalla Via J.** (2006). First analysis of genetic variability in carinthian populations of the white-clawed crayfish *Austropotamobius pallipes*. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 380-381: 977-990.
- Bermingham E. a Moritz C.** (1998). Comparative phylogeography: concepts and applications. *Molecular Ecology* 7: 367-369.
- Bernatchez L. a Wilson C. C.** (1998). Comparative phylogeography of Nearctic and Palearctic fishes. *Molecular Ecology* 7: 431-452.
- Bernatchez L.** (2001). The evolutionary history of brown trout (*Salmo trutta* L.) inferred from phylogeographic, nested clade and mismatch analyses of mitochondrial DNA variation. *Evolution* 55: 351-379.
- Beroiz B., Callejas C., Alonso F. a Ochando M. D.** (2008). Genetic structure of Spanish white-clawed crayfish (*Austropotamobius pallipes*) populations as determined by RAPD analysis: reasons for optimism. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 18: 190-201.
- Bianco P. G.** (1995). Mediterranean endemic freshwater fishes in Italy. *Biological Conservation* 72: 159-170.
- Bij de Vaate A., Jadzewski K., Ketelaars H. A. M., Gollasch S. a Van der Velde G.** (2002). Geographical patterns in range extension of Ponto-Caspian macroinvertebrates species in Europe. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 59: 1159-1174.
- Bramard M., Demers A., Trouilhe M-C., Bachelir E., Dumas J-C., Fournier C., Broussard E., Robin O., Souty-Grosset C. a Grandjean F.** (2006). Distribution of indigenous and non-indigenous crayfish populations in the Poitou-charentes region (France): Evolution over the past 25 years. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 380-381: 857-866.

- Bubb D. H., Thom T. J. a Lucas M. C.** (2005). The within-catchment invasion of the non-indigenous signal crayfish *Pacifastacus leniusculus* (Dana), in upland river. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 376-377: 665-673.
- Bubb D. H., Thom T. J. a Lucas M. C.** (2008). Spatial ecology of the white-clawed crayfish in an upland stream and implications for the conservatio of this endangered species. *Aquatic Conservation: Marine and freshwater Ecosystems* 18: 647-657.
- Cataudella R., Paolucci M., Delaunay C., Ropquiet A., Hassanin A., Balsamo M. a Grandjean F.** (2010). Genetic variability of *Austropotamobius italicus* in the Marches region: implications for conservation. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 20: 261-268.
- Cataudella R., Puillandre N. a Grandjean F.** (2006). Genetic analysis for conservation of *Austropotamobius italicus* in Marches region (Central Italy). *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 380-381: 991-1000.
- Chiesa S., Maldini M., Scalici M., Nonnis Marzano F. a Gibertini G.** (2010). Assessment of genetic differentiation in Italian populations of *Austropotamobius pallipes* species complex: taxonomic and management implications. *Studi Trentini di Scienze Naturali* 87: 77-82.
- Cristescu M. E. A., Hebert P. D. N. a Oncia T. M.** (2003). Phylogeography of Ponto-Caspian crustaceans a benthic-planktonic comparison. *Molecular Ecology* 12: 985-996.
- Cristescu M. E. A., Witt J. D. S., Grigorovich I. A., Hebert P. D. N. a MacIsaac H. J.** (2004). Dispersal of the Ponto-Caspian amphipod *Echinogammarus ischnus*: invasion waves from the Pleistocene to the present *Heredity* 92: 197-203.
- Davies N., Villablanca F. X. a Roderick G. K.** (1999). Determining the source of individulas: multilocus genotyping in nonequilibrium population genetics. *Trends in Ecology and Evolution* 14: 17-21.
- Diéguez-Urbeondo J., Royo F., Souty-Grosset C., Ropiquet A. a Grandjean F.** (2008). Low genetic variability of the white-clawed crayfish in the Iberian Peninsula: its origin and management implications. *Aquatic conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 18: 19-31.
- Edsman L., Farris J. S., Källersjö M. a Prestegard T.** (2002). Genetic differentiation between noble crayfish, *Astacus astacus* (L.), populations detected by microsatellite length variation in the rDNA ITS1 region. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 367: 691-706.
- Englbrecht C. C., Freyhof J., Nolte A., Rassmann K., Schliewen U. a Tautz D.** (2000). Phylogeography of the bullhead *Cottus gobio* (Pisces: Teleostei: Cottidae) suggests a pre-Pleistocene origin of the major central European populations. *Molecular Ecology* 9: 709-722.
- Fevolden S. E., Taugbøl T. a Skurdal J.** (1994). Allozymic variation among populations of noble crayfish, *Astacus astacus* L., in southern Norway: implications for management. *Aquaculture and Fisheries Management* 25: 927-935.
- Fratini S., Zaccara S., Barbaresi S., Grandjean F., Souty-Grosset C. a Gherardi F.** (2005). Phylogeography of the threatened crayfish (genus *Austropotamobius*) in Italy: implications for its taxonomy and conservations. *Heredity* 94: 108-118.
- Füreder L., Oberkofler B., Hanel R., Leiter J. a Thaler B.** (2003). The freshwater crayfish *Austropotamobius pallipes* in South Tyrol: heritage species and bioindicator. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 370-371: 79-95.
- Gouin N, Grandjean F, Bouchon D, Reynolds J D a Souty-Grosset C** (2001). Population genetic structure of the endangered freshwater crayfish *Austropotamobius pallipes*, assessed using RAPD markers. *Heredity* 87: 80-87.
- Gouin N, Grandjean F, Pain S, Souty-Grosset C a Reynolds J** (2003). Origin and colonization history of the white-clawed crayfish, *Austropotamobius pallipes*, in Ireland. *Heredity* 91: 70-77.
- Gouin N., Grandjean F. a Souty-Grosset C.** (2006). Population genetic structure of the endangered crayfish *Austropotamobius pallipes* in France based on microsatellite variation: biogeographical inferences and conservation implications. *Freshwater Biology* 51: 1369-1387.
- Grandjean F., Frelon-Raimond M. a Souty-Grosset C.** (2002). Compilation of molecular data for the phylogeny of the genus *Austropotamobius*: One species or several? *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 367: 671-680.

- Grandjean F., Gouin N., Souty-Grosset C. a Diéguez-Uribeondo J.** (2001). Drastic bottlenecks in the endangered crayfish species *Austropotamobius pallipes* in Spain and implications for its colonization history. *Heredity* 86: 431-438.
- Grandjean F., Souty-Grosset C., Raimond R. a Holdich D. M.** (1997). Geographical variation of mitochondrial DNA between populations of the white-clawed crayfish *Austropotamobius pallipes*. *Freshwater Biology* 37: 493-501.
- Grandjean F., Souty-Grosset C. a Holdich D. M.** (1997b). Mitochondrial DNA variation in four British populations of the white-clawed crayfish, *Austropotamobius pallipes*: implications for management. *Aquatic Living Resources* 10: 121-126.
- Grandjean F. a Souty-Grosset C.** (1996). Isolation and characterization of mitochondrial DNA from the endangered white-clawed crayfish *Austropotamobius pallipes*, Lereboullet, 1858. *Bulletin Français de la Pêche et Pisciculture* 343: 175-182.
- Grandjean F. a Souty-Grosset C.** (2000). Mitochondrial DNA variation and population genetic structure of the white-clawed crayfish, *Austropotamobius pallipes pallipes*. *Conservation Genetics* 1: 309-319.
- Hefti D. a Stucki P.** (2006). Crayfish management for Swiss waters. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 380-381: 937-950.
- Hewitt G. M.** (1996). Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society* 58: 247-276.
- Hogger J. B.** (1988). Ecology, Population Biology and Behaviour. In: **Holdich D. M. a Lowery R. S.** (eds). Freshwater Crayfish: Biology, Management and Exploitation. *Timber Press* 114-144.
- Holdich D. M., Harlioglu M. M. a Firkins I.** (1997). Salinity adaptations of crayfish in British waters with particular reference to *Austropotamobius pallipes*, *Astacus leptodactylus* and *Pacifastacus leniusculus*. *Estuarine and Shelf Science* 44: 2: 147-154.
- Holdich D. M.** (2002). Distribution of crayfish in Europe and some adjoining countries. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 367: 611-650.
- Hou L., Fu J. a Li S.** (2007). A molecular phylogeny of the genus *Gammarus* (crustacea: Amphipoda) based on mitochondrial and molecular sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 45: 596-611.
- IUCN** (2010). IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.4. <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>.
- Jesse R, Pfenninger M, Fratini S, Massimiliano S, Streit B, Schubart C D** (2009). Disjunct distribution of the Mediterranean freshwater crab *Potamon fluviatile*-natural expansion or human introduction? *Biological Invasions* 11: 2209-2221.
- Jussila J. a Monnonen A.** (2004). Crayfisheries in Finland, a short overview. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 372-373: 263-273.
- Karaman G. S. a Pinkster S.** (1987). Freshwater *Gammarus* species from Europe, North Africa and adjacent regions of Asia. Part III. *Gammarus balcanicus*-group and related species. *Bijdragen tot de Dierkunde* 57: 207-260.
- Ketmaier V.** (2002). Isolation by distance, gene flow and phylogeography in the *Proasellus coxalis*-group (Crustacea, Isopoda) in Central Italy: allozyme data. *Aquatic Sciences* 64: 66-75.
- Ketmaier V., Argano R. a Caccone A.** (2003). Phylogeography and molecular rates of subterranean aquatic Stenasellid Isopods with peri-Tyrrhenian distribution. *Molecular Ecology* 12: 547-555.
- Ketmaier V., Argano R., Cobolli M., De Matthaeis E. a Messina G.** (2001). A systematic and biogeographical study of epi- and hypogean populations of the *Proasellus* species group from Sardinia, central Italy and Jordan: allozyme insights. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 39: 53-61.
- Kõiv K., Gross R., Paaver T. a Kuehn R.** (2008). Isolation and characterization of first microsatellite markers for the noble crayfish, *Astacus astacus*. *Conservation Genetics* 9: 1703-1706.
- Krebes L., Blank M., Jürss K., Zettler M. L. a Bastrop R.** (2010). Glacial-driven vicariance in the amphipod *Gammarus duebeni*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 54: 372-385.

- Largiadèr C. R., Herger F., Lörtscher M. a Scholl A.** (2000). Assessment of natural and artificial propagations of the white-clawed crayfish (*Austropotamobius pallipes* species complex) in the Alpine region with nuclear and mitochondrial markers. *Molecular Ecology* 9: 25-37.
- Lörtscher M., Claluna M. a Scholl A.** (1998). Genetic population structure of *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet 1858) (Decapoda: Astacidae) in Switzerland, based on allozyme data. *Aquatic Sciences* 60: 118-129.
- Lörtscher M., Stucki T. P., Clalüna M. a Scholl A.** (1997). Phylogeographic structure of *Austropotamobius pallipes* populations in Switzerland. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 347: 649-661.
- Machino Y. a Füreder L.** (2005). How to find a stone crayfish *Austropotamobius torrentium* (Schränk, 1803): A biogeographic study in Europe. *Bulletin Français de la Pêche et Pisciculture* 376-377: 507-517.
- MacNeil C., Dick J. T. A., Bigsby E., Elwood R. W., Montgomery W. I., Gibbins C. N. a Kelly D. W.** (2002). The validity of the *Gammarus*: *Asellus* ratio as an index of organic pollution: abiotic and biotic influences. *Water Research* 36: 75-84.
- Maguire I. a Klobučar G.** (2009). Morphological characteristics of stone crayfish from „Žumberak-Samoborsko gorje“ Nature Park. Kniha abstraktů z konference „Regional European Crayfish Workshop: Future of Native Crayfish in Europe“, Písek, 7. – 10. 9. 2009.
- Martin P., Pfeifer M. a Füllner G.** (2007). First record of the stone crayfish *Austropotamobius torrentium* (Schränk, 1803) (Crustacea: Decapoda: Astacidae) from Saxony (Germany). *Faunistische Abhandlungen* (Dresden) 26: 103-108.
- Meyran J-C, Gielly L a Taberlet P** (1998). Environmental calcium and mitochondrial DNA polymorphism among local populations of *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda). *Molecular Ecology* 7: 1391-1400.
- Meyran J-C. a Taberlet P.** (1998). Mitochondrial DNA polymorphism among alpine populations of *Gammarus lacustris* (Crustacea: Amphipoda). *Freshwater Biology* 39: 2: 259-265.
- Moritz C.** (1994). Defining 'Evolutionary Significant Units' for conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 9: 373-375.
- Müller J.** (1998). Genetic population structure of two cryptic *Gammarus fossarum* types across a contact zone. *Journal of Evolutionary Biology* 11: 79-101.
- Müller J.** (2000). Mitochondrial DNA Variation and the Evolutionary History of Cryptic *Gammarus fossarum* Types. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 15: 2: 260-268.
- Müller J. C., Schram S. a Seitz A.** (2002). Genetic and morphological differentiation of *Dikerogammarus* invaders and their invasion history in Central Europe. *Freshwater Biology* 47: 2039-2048.
- Nagel K. O.** (2000). Testing hypotheses on the dispersal and evolutionary history of freshwater mussels (Mollusca: Bivalvia: Unionidae). *Journal of Evolutionary Biology* 13: 854-865.
- Petrusek A., Fischer D., Vlach P., Leština D., Martin P. a Kozák P.** (2009). Haplotype variation of the stone crayfish *Austropotamobius torrentium* in the Elbe watershed. Kniha abstraktů z konference „Regional European Crayfish Workshop: Future of Native Crayfish in Europe“, Písek, 7. – 10. 9. 2009.
- Pedraza-Lara C., Alda F., Carranza S. a Doadrio I.** (2010). Mitochondrial DNA structure of the Iberian populations of the white-clawed crayfish, *Austropotamobius italicus italicus* (Faxon 1914). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 57: 327-342.
- Provan J. a Bennett K. D.** (2008). Phylogeographic insights into cryptic glacial refugia. *Trends in Ecology and Evolution* 23: 564-571.
- Reynolds J. D.** (1997). The present status of freshwater crayfish in Ireland. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 347: 693-700.
- Rock J., Ironside J., Potter T., Whiteley N. M. a Lunt D. H.** (2007). Phylogeography and environmental diversification of a highly adaptable marine amphipod, *Gammarus duebeni*. *Heredity* 99: 102-111.

- Rögl V. F.** (1998). Paleogeographic Considerations for Mediterranean and Paratethys Seaways (Oligocene to Miocene). *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien* 99 A: 279-310.
- Santucci F., Iaconelli M., Andreani P., Cianchi R., Nascetti G. a Bullini L.** (1997). Allozyme diversity of european freshwater crayfish of genus *Austropotamobius*. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 347: 663-676.
- Schubart C. D. a Huber M. G. J.** (2005). Distribution and reproductive biology of *Austropotamobius torrentium* in Bavaria and documentation of a contact zone with the alien crayfish *Pacifastacus leniusculus*. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 376-377: 759-776.
- Schubart C. D. a Huber M. G. J.** (2006). Genetic comparisons of German populations of the stone crayfish, *Austropotamobius torrentium* (Crustacea: Astacidae). *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 380-381: 1019-1028.
- Schrimpf A., Schulz H. K., Theissinger K., Pârvaescu L. a Schulz R.** (v tisku). The first large-scale genetic analysis of the vulnerable noble crayfish *Astacus astacus* reveals low haplotype diversity in central European populations.
- Schulz H. K. a Grandjean F.** (2005). Roundtable session 3 phylogeny of European crayfish – Improving the taxonomy of European crayfish for a better conservation. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 376-377: 829-836.
- Schulz H. K., Śmietana P. a Schulz R.** (2004). Assesment of DNA variations of the noble crayfish (*Astacus astacus* L.) in Germany and Poland using inter-simple sequence repeats (ISSRS). *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 372-373: 387-399.
- Siegismund H. R. a Müller J.** (1991). Genetic structure of *Gammarus fossarum* populations. *Heredity* 66: 419-436.
- Sket B.** (1997). Distribution of *Proteus* (Amphibia: Urodela: Proteidae) and its possible explanation. *Journal of Biogeography* 24: 263-280.
- Skurdal J. a Taugbøl T.** (2002). *Astacus*. In: Holdich D.M. (ed.), *Biology of Freshwater Crayfish*. Blackwell Science Ltd, Oxford, 467-510.
- Souty-Grosset C., Holdich D. M., Reynolds P. Y. a Haffner P.** (2006). Atlas of crayfish in Europe. *Museum National d'Histoire Naturelle, Paris*.
- Stefani F., Zaccara S., Delmastro G. B. a Buscarino M.** (2011). The endangered white-clawed crayfish *Austropotamobius pallipes* (Decapoda: Astacidae) east and west of the Maritime Alps: a result of human translocation? *Conservation genetics* 12: 51-60.
- Steinfartz S., Veith M. a Tautz D.** (2000). Mitochondrial sequence analysis of *Salamandra* taxa suggest old splits of major lineages and postglacial recolonizations of Central Europe from distinct source populations of *Salamandra salamandra*. *Molecular Ecology* 9: 397-410.
- Stewart J. R. a Lister A. M.** (2001). Cryptic northern refugia and origins of the modern biota. *Trends in Ecology and Evolution* 16: 608-613.
- Štambergová M., Bádr V. a Ďuriš Z.** (2005). Decapoda (desetinožci). In: **Farkač J., Král D. a Škorpík M.** (eds.). Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí. List of threatened species in the Czech Republic. Invertebrates. – *Agentura ochrany přírody a krajiny ČR*, Praha 100-101.
- Štambergová M., Svobodová J. a Kozubíková E.** (2009). Rak říční. In: *Raci v České republice*. *Agentura ochrany přírody a krajiny ČR*, Praha: 55-62.
- Taberlet P., Fumagalli L., Wust-Saucy A.-G. a Cosson J.-F.** (1998). Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular Ecology* 7: 453-464.
- Trontelj P., Machino Y. a Sket B.** (2005). Phylogenetic and phylogeographic relationships in the crayfish genus *Austropotamobius* inferred from mitochondrial COI gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 34: 212-226.
- Vainio J. K. a Väiniölä R.** (2003). Refugial races and postglacial colonization history of the freshwater amphipod *G. lacustris* in northern Europe. *Biological Journal of the Linnean Society* 79: 523-542.
- Väiniölä R., Witt J. D. S., Grabowski M., Bradbury J. H., Jadzewski K. a Sket B.** (2008). Global diversity of amphipods (Amphipoda: Crustacea) in freshwater. *Hydrobiologia* 595: 241-255.

- Vlach P., Hulec L. a Fischer D.** (2010). Recent distribution, population densities and ecological requirements of the stone crayfish (*Austropotamobius torrentium*) in Czech Republic. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 394-395: článek 13.
- Weiss S., Persat H., Eppe R., Schloetterer C. a Uibleins F.** (2002). Complex patterns of colonization and refugial revealed for European grayling *Thymallus thymallus*, based on complete sequencing of the mitochondrial DNA control region. *Molecular Ecology* 11: 1393-1407.
- Verovnik R., Sket B., Prevorčnik S. a Trontelj P.** (2003). Random amplified polymorphic DNA diversity among surface and subterranean populations of *Asellus aquaticus* (Crustacea: Isopoda). *Genetica* 119: 155-165.
- Verovnik R., Sket B. a Trontelj P.** (2004). Phylogeography of subterranean and surface populations of water lice *Asellus aquaticus* (Crustacea: Isopoda). *Molecular Ecology* 13: 1519-1532.
- Verovnik R., Sket B. a Trontelj P.** (2005). The colonization of Europe by the freshwater crustacean *Asellus aquaticus* (Crustacea: Isopoda) proceeded from ancient refugia and was directed by habitat connectivity. *Molecular Ecology* 14: 4355-4369.
- Wu H., Guiot J., Brewer S. a Guo Z.** (2007). Climatic changes in Eurasia and Africa at the last glacial maximum and mid-Holocene: reconstruction from pollen data using inverse vegetation modelling. *Climate Dynamics* 29: 211-229.
- Zaccara S., Stefani F. a Crosa G.** (2005). Diversity of mitochondrial DNA of the endangered white-clawed crayfish (*Austropotamobius pallipes*) in the Po River catchment. *Freshwater Biology* 50: 1262-1272.
- Zaccara S., Stefani F. a Delmastro G. B.** (2007). Phylogeographical structure of vairone *Telestes muticellus* (Teleostei, Cyprinidae) within three European peri-Mediterranean districts. *Zoologica Scripta* 36(5): 443-453.

## 11.1 Převzaté citace:

- Albrecht H.** (1982). Das system der europäischen Flusskrebse (Decapoda, Astacidae), Vorschlag und Begründung. *Mitteilungen Hamburgisches Zoologisches Museum und Institut* 79: 187-210.
- Albrecht H.** (1983). Besiedlungsgeschichte und ursprüngliche holozäne Verbreitung der europäischen Flusskrebse. *Spixiana* 6: 61-77.
- Ambrosetti P., Carboni M. G., Conti M. A., Constantini A., Esu D., Gandin A., Girotti O., Lazzaroto A., Mazzanti R., Nicosia U., Parisi G. a Sandrilli F.** (1979). Evoluzione paleogeografica e tettonica nei bacini tosco-umbra-laziali nel Pliocene e nel Pleistocene inferiore. *Memorie della Società Geologica Italiana* 19: 573-580.
- Brandis D.** (1997). Untersuchungen zur Morphologie und Systematik altweltlicher Potamidae (Brachyura, Decapoda, Crustacea). Dissertation, *Ruprecht-Karls-Universität*, Heidelberg.
- Brodsky S. Y.** (1963). On the systematics of Palearctic crayfishes (Crustacea, Astacidae). *Freshwater crayfish* 5: 464-470.
- Catautto C., Cencetti C. a Gregori L.** (1988). Lo studio dei corsi d'acqua minori dell'Italia Appenninica come mezzo di indagine sulla tettonica del Plio/Pleistocene. *Bollettino del Museo di Storia Naturale della Lunigiana* 6-7: 7-10.
- Coxon P.** (2001). Cenozoic: tertiary and quaternary (until 10,000 years before present), Chapter 16. In: **Holland C. H.** (ed) *The geology of Ireland*, Dunedin Academic Press: Edinburgh. 387-428.
- Lucey J.** (1999). A chronological account of the crayfish *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet) in Ireland. *Bulletin of the Irish biogeographical Society* 23: 143-161.
- Machino Y, Füreder L, Laurent P J a Petutschnig J** (2004). Introduction of the white-clawed crayfish *Austropotamobius pallipes* in Europe. *Berichte des Naturwissenschaftlich-Medizinischen Vereins in Innsbruck* 91: 187-212.
- Segerstråle S. G.** (1957). The freshwater amphipods *Gammarus pulex* L. and *Gammarus lacustris* G. O. Sars in Denmark and Fennoscandia. A contribution to the late and postglacial immigration history of the aquatic fauna of northern Europe. *Commentiones Biologicae Societas Scientorum Fennica* 15: 1-91.

**Stoch F.** (1989). Il gruppo *pavani* del genere *Proasellus* (Crustacea, Isopoda) in Italia: considerazioni tassonomiche e filogenetiche. *Gortania-Atti Museo Friulano di Storia Naturale*. 10: 163-192.